



# **Molekulare Physiologie und Genetik der Homothallie bei Zygomyceten**

**Dissertation  
zur Erlangung des akademischen Grades  
doctor rerum naturalium (Dr. rer. nat.)**

**vorgelegt dem Rat der Biologisch-Pharmazeutischen Fakultät  
der Friedrich-Schiller- Universität Jena**

**von Master of Science Emilia Schulz  
geboren am 31. Januar 1990 in Reichenbach i. Vogtland**

**Gutachter der Dissertation:**

1. Gutachter: Prof. Dr. Johannes Wöstemeyer, Universität Jena
2. Gutachter: Prof. Dr. Ralf Oelmüller, Universität Jena
3. Gutachter: Prof. Dr. Paul Galland, Universität Marburg

Tag der öffentlichen Verteidigung: 22.05.2017

*„Wissenschaft ist wie Sex. Manchmal kommt etwas Sinnvolles dabei  
raus, das ist aber nicht der Grund, warum wir es tun.“*

---

Richard P. Feynman

# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG .....</b>	<b>4</b>
<b>1</b>	<b>SUMMARY .....</b>	<b>6</b>
<b>2</b>	<b>EINFÜHRENDER THEORETISCHER TEIL.....</b>	<b>8</b>
<b>2.1</b>	<b>Sexuelle und asexuelle Entwicklung der Zygomyceten .....</b>	<b>8</b>
2.1.1	Sexuelle Interaktion heterothallischer Zygomyceten .....	9
2.1.2	Sexuelle Interaktion in homothallischen Zygomyceten .....	10
2.1.3	Asexuelle Entwicklung der Zygomyceten .....	12
<b>2.2</b>	<b>Carotin- und Trisporoid-Stoffwechsel .....</b>	<b>13</b>
2.2.1	$\beta$ -Carotin-Synthese.....	13
2.2.2	Regulation des Carotin-Stoffwechsels .....	15
2.2.3	Trisporoide als Sexualhormone.....	18
<b>2.3</b>	<b>Sex-Loci von Pilzen.....</b>	<b>23</b>
2.3.1	Der MAT-Locus der Ascomyceten .....	23
2.3.2	Der MAT-Locus der Basidiomyceten .....	26
2.3.3	Sex-Locus der Zygomyceten.....	27
<b>2.4</b>	<b>UV-Mutagenese und DNA-Reparatur .....</b>	<b>30</b>
<b>3</b>	<b>ZIELE .....</b>	<b>34</b>
<b>4</b>	<b>MATERIAL UND METHODEN .....</b>	<b>35</b>
<b>4.1</b>	<b>Materialien .....</b>	<b>35</b>
4.1.1	Verwendete Stämme, Stammhaltung und Kultivierung .....	35
4.1.2	Verwendete Chemikalien und Geräte.....	39
<b>4.2</b>	<b>Methoden.....</b>	<b>42</b>
4.2.1	DAPI-Färbung der Sporangiosporen.....	42
4.2.2	Calcoflour-Färbung der Sporangien.....	42
4.2.3	UV-Mutagenese .....	42
4.2.4	Charakterisierung der Mutanten.....	43
4.2.4.1	Wachstumsverhalten auf verschiedenen Medien.....	43
4.2.4.2	Sporenanzahl und Keimrate.....	43
4.2.4.3	Kreuzungsverhalten .....	44
4.2.5	Extraktion und Analyse von Trisporoiden .....	44

4.2.6	Extraktion von Carotin .....	46
4.2.7	Wirkung der Polyamine .....	47
4.2.8	Isolation von DNA .....	47
4.2.8.1	Isolation von genomischer DNA nach Einax and Voigt, 2003 .....	47
4.2.8.2	Isolation von genomischer DNA über einen Cäsiumchlorid-Gradienten .....	48
4.2.9	Agarose-Gelelektrophorese .....	49
4.2.10	Polymerase-Ketten-Reaktion (PCR).....	49
<b>4.3</b>	<b>Bioinformatische Analysen .....</b>	<b>51</b>
<b>5</b>	<b>ERGEBNISSE UND AUSWERTUNG .....</b>	<b>54</b>
<b>5.1</b>	<b>Mutagenese und Charakterisierung.....</b>	<b>54</b>
5.1.1	Morphologie des Wildtyps von <i>Zygorhynchus moelleri</i> FSU 531 .....	54
5.1.2	UV-Mutagenese .....	55
5.1.3	UV-Mutanten – morphologische Charakterisierung .....	58
5.1.3.1	UV44 .....	65
5.1.3.2	UV48 .....	65
5.1.3.3	UV112 .....	66
5.1.3.4	UV127 .....	67
5.1.3.5	UV139 .....	69
5.1.3.6	UV542 .....	70
5.1.3.7	UV554 .....	71
5.1.4	Sporentiter und Keimrate .....	72
5.1.5	Kreuzungstests .....	74
<b>5.2</b>	<b>Carotin-Extraktion .....</b>	<b>75</b>
<b>5.3</b>	<b>Die Methionin-auxotrophe Mutante UV127.....</b>	<b>77</b>
<b>5.4</b>	<b>Analyse der Trisporoidextrakte der UV-Mutanten von <i>Zygorhynchus moelleri</i> .....</b>	<b>81</b>
5.4.1	Bestimmung der Trisporoidkonzentration.....	81
5.4.2	Dünnschichtchromatographische Analyse der Trisporoide.....	84
5.4.3	Biologische Aktivität der Trisporoide und des Kulturmediums .....	90
<b>5.5</b>	<b>Polyamine und Transglutaminasen in <i>Mucorales</i>.....</b>	<b>90</b>
5.5.1	FITC Färbung (angelehnt an Hendrike Dürichen) .....	91
5.5.2	Polyamine.....	92
5.5.3	Transglutaminasen .....	95
5.5.3.1	Färbung von intrazellulärem Calcium (zusammen mit Hendrike Dürichen) .....	96
5.5.3.2	Transglutaminase-Aktivität und Hemmung.....	97
<b>5.6</b>	<b>Der sex-Locus der <i>Mucorales</i> .....</b>	<b>100</b>
5.6.1	Der sex-Locus der heterothallischen <i>Mucorales</i> .....	105

5.6.2	Der sex-Locus der homothallischen Mucorales .....	107
5.6.3	SexM und SexP als HMG-Domänen Transkriptionsfaktoren .....	120
<b>6</b>	<b>DISKUSSION .....</b>	<b>129</b>
6.1	Charakterisierung der Entwicklungsmutanten .....	129
6.2	Lichtabhängigkeit der asexuellen Sporangiosporogenese .....	131
6.3	Akkumulation von $\beta$ -Carotin in UV139 und UV542 .....	132
6.4	Methionin ist an der sexuellen Entwicklung von <i>Zygorhynchus moelleri</i> beteiligt .....	132
6.5	Polyamine und Transglutaminasen sind für die sexuelle Interaktion von Mucorales unerlässlich .....	134
6.6	Der sex-Locus homo- und heterothallischer Zygomyceten .....	136
6.6.1	Die Gene sexM und sexP für HMG- Transkriptionsfaktoren.....	136
6.6.2	Homothallie.....	138
<b>7</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS .....</b>	<b>140</b>
<b>8</b>	<b>ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS .....</b>	<b>159</b>
<b>9</b>	<b>ABBILDUNGSVERZEICHNIS .....</b>	<b>160</b>
<b>10</b>	<b>ANHANG .....</b>	<b>164</b>
<b>11</b>	<b>WISSENSCHAFTLICHE VERÖFFENTLICHUNGEN.....</b>	<b>199</b>
<b>12</b>	<b>CURRICULUM VITAE .....</b>	<b>200</b>
<b>13</b>	<b>DANKSAGUNG.....</b>	<b>202</b>
<b>14</b>	<b>EIGENWÖRTLICHE ERKLÄRUNG .....</b>	<b>203</b>

## 1 Zusammenfassung

Pilze können in Bezug auf sexuelle Entwicklung homo- oder heterothallisch sein. Während die sexuelle Interaktion in heterothallischen Pilzen zwischen zwei zueinander kompatiblen Kreuzungspartnern stattfindet, entwickeln sich in homothallischen Pilzen sexuelle Strukturen im selben Individuum. Die genetische Information für den vollständigen Differenzierungsweg beider Kreuzungspartner muss sich demzufolge bei Homothallischen in einem einzigen Individuum befinden. Dennoch kann man in Zygomyceten den sexuell determinierten Hyphen, durchweg als Zygophore bezeichnet, bei den homothallischen Spezies anhand von 4-Dihydromethyltrisorat-Dehydrogenase-Aktivitätsmessungen *in situ* eine (+)- bzw. (-)-Identität zuweisen. Die molekularen und genetischen Hintergründe der sexuellen Entwicklung von Zygomyceten sind bis heute noch nicht vollständig aufgeklärt worden.

Für genetische Untersuchungen sind Mutanten unverzichtbar. In dieser Arbeit wurde ein Set stabiler Mutanten mit Defekten in der sexuellen Entwicklung erarbeitet. Insgesamt wurden mit Hilfe der UV-Mutagenese sieben sexuell defekte Mutanten des homothallischen Zygomyceten *Zygorhynchus moelleri* isoliert, die für die Identifikation der in die sexuelle Morphogenese involvierten Gene von großem Wert sind. Homothallische Spezies eignen sich dafür am besten, da hier das Screening für Störungen in der sexuellen Entwicklung keinen zweiten kompatiblen Kreuzungspartner erfordert. Von mehreren Optionen wurde *Zygorhynchus moelleri* ausgewählt, da dieser Pilz sehr gut verschiedene, morphologisch gut definierbare Stadien der Zygosporenbildung erkennen lässt und überdies problemlos sehr schnell und in großer Anzahl sexuelle Strukturen in der Kultur entwickelt.

Zwei der Mutanten, UV139 und UV542, bilden hauptsächlich Zygophoren aus, während UV44 und UV48 in der Bildung der Gametangien-Wand gestört sind. UV554 scheint in der Zygosporen-Bildung beeinträchtigt zu sein. UV112 ist nicht in der Lage, eine vollständig ausgebildete Zygosporen-Wand mit den typischen Merkmalen zu synthetisieren.

Die UV-Mutante UV127 wurde wie die anderen ursprünglich als sexuelle Defektmutante isoliert. Die Defekte in der sexuellen und asexuellen Morphogenese von UV127 werden nur bei geringen Methioninkonzentrationen ausgeprägt. Da die Zygosporogenese vom korrespondierenden Wildtyp und auch der Methionin-supplementierten Mutante mit



Methyltransferase-Inhibitoren gehemmt werden kann, ist der Schluss zulässig, dass Methionin beziehungsweise Methylierungsprozesse in die Entwicklungsprozesse von *Zygorhynchus moelleri* involviert sind.

Weiterführende Untersuchungen zur Zygosporienbildung von *Zygorhynchus moelleri* ergaben eine stimulierende Wirkung von Polyaminen. Es wurde zudem gezeigt, dass Transglutaminasen maßgeblich an der an sexuellen Entwicklung von Zygomyceten beteiligt sind.

Die Identität der beiden komplementären Kreuzungstypen, traditionell als (+) und (–) bezeichnet, wird physiologisch von Pheromonen bestimmt. Zusätzlich zur Komplementarität definierter Pheromone (Trisporoide) wird die Expression des Kreuzungstyps von Kreuzungstyp-spezifischen Transkriptionsfaktoren definiert. Die Gene für die Transkriptionsfaktoren SexM und SexP liegen auf einem Kreuzungstyp-Locus (*MAT*), der eventuell als Master Regulator für die sexuelle Determination fungiert. Die Kreuzungstyp-spezifischen Homologen, *sexM* und *sexP*, kodieren für HMG-Domänen-Proteine und wurden primär über die Syntanie einiger Gene am *MAT*- bzw. *sex*-Locus definiert. In dieser Arbeit wurde allerdings das Syntanie-Konzept relativiert. Vergleichende Analysen der *sex*-Loci verschiedener homo- und heterothallischer *Mucor*-artiger Zygomyceten ergaben, dass die Konservierung dieser Gene durchaus nicht in allen Spezies gleichermaßen auftritt. Die entsprechenden Gene gehören zwar zum normalen genetischen Bestand auch solcher Spezies, liegen jedoch durchaus nicht durchweg in unmittelbarer Nachbarschaft der *sex*-Locus typischen Gene für die HMG-Transkriptionsfaktoren.

## 1 Summary

With respect to sexual development, fungi can either be homo- or heterothallic. Whereas sexual interaction of heterothallic fungi takes place between two compatible mating types, sexual structures develop within the same mycelium in homothallics. Genetic information for the complete differentiation pathway of both mating types must be within the same individual, consequently. Nevertheless, in zygomycetes it is possible to assign either a (+)- or a (–)-identity for sexual determined hyphae, termed zygothores, by measuring 4-dihydromethyltriosporate activity *in situ*. The molecular and genetic background of sexual development in zygomycetes have not yet been fully explained until now.

Mutants are indispensable for genetic analysis in this field. In this work a set of stable mutants carrying defects in the sexual development was provided. Overall, seven sexual defective mutants of the homothallic zygomycete *Zygorhynchus moelleri* were isolated using UV-mutagenesis. These mutants are invaluable for the identification of genes involved in sexual morphogenesis. Because screening for disorders in the sexual development does not require two compatible mating types, homothallic species are most suitable. After scrutinising multiple options *Zygorhynchus moelleri* was selected, because this fungus produces many different and morphologically defined stages of Zygosporangium development. *Zygorhynchus moelleri* produces a high number of sexual structures very rapidly.

Two mutants, UV139 and UV542, form zygothores, predominantly. Whereas UV44 and UV48 seem to be blocked in formation of gametangial walls. UV554 is defective in Zygosporangium development itself. UV112 is not able to synthesize a typical differentiated zygosporangial wall.

Mutant UV127 was isolated as a sexual defective mutant, originally. The defects in sexual and asexual morphogenesis of UV127 are noticeable during cultivation at low methionine concentrations. Since zygosporogenesis is inhibited by methyltransferase inhibitors in the methionine-supplemented UV127 and the corresponding wild type, it can be concluded, that methionine or rather methylation processes are involved in developmental processes of *Zygorhynchus moelleri*.

Further investigations for the formation of zygosporangia in *Zygorhynchus moelleri* have shown that polyamines have a stimulative effect. It was demonstrated that transglutaminases are crucially involved in sexual development of zygomycetes.

The identity of both complementary mating types, which are traditionally termed (+) and (–), is determined by pheromones on the physiological level. In addition to complementarity of defined pheromones (trisporeids) the expression of mating type is defined by mating type specific transcription factors. The transcription factor genes, *sexM* and *sexP*, are located on a mating type locus (*MAT*), which possibly functions as a master regulator locus for sexual determination. The mating type specific, homologous *sexM* and *sexP* encode for HMG-domain containing proteins and were defined by synteny in the *MAT*- or *sex*-locus primary. In this thesis, the concept of synteny was relativized. Comparative analysis of sex-loci of different homo- and heterothallic Mucor-like zygomycetes showed that the conservation of these genes is not distributed in all species. The corresponding genes are part of the genomes of all species, but are not necessarily located in the direct neighbourhood of the sex-locus specific transcription factor genes.

## 2 Einführender theoretischer Teil

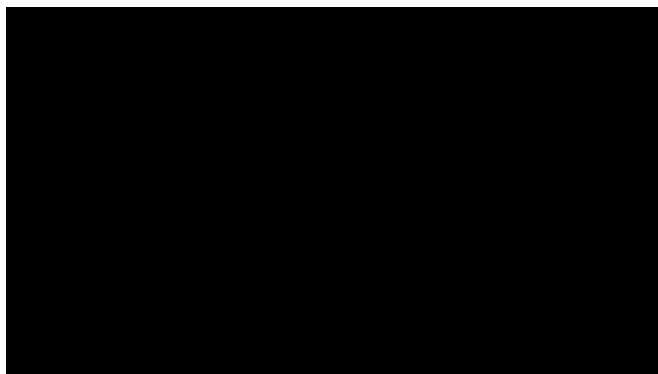
Mutanten sind für die Aufklärung grundlegender biologischer Prozesse von essentieller Bedeutung. Eine große Rolle spielt dabei die genaue Aufdeckung morphogenetischer Prozesse.

Entwicklungsmutanten des filamentösen Ascomyceten *Aspergillus nidulans*, der von Pontecorvo et al., (1953) als Modellorganismus etabliert wurde, dienten beispielsweise zur Aufschlüsselung der Konidiogenese und deren genetischer Kontrolle (Timberlake, 1990).

Für einige Pilze, wie Zygomyceten, mangelt es noch an einer breiten Vielfalt an morphologischen Mutanten, die fundamentale Probleme, wie das Verständnis über die Hormon-induzierte sexuelle Entwicklung und das Phänomen der Entstehung von Hetero- und Homothallie, aufklären können.

### 2.1 Sexuelle und asexuelle Entwicklung der Zygomyceten

Zygomyceten (Jochpilze) gehören zu den phylogenetisch ältesten Pilzen und gelten somit als Vorfahren der deutlich jüngeren Basidio- und Ascomyceten (Abb. 1). Blakeslee beschrieb 1904 erstmals die Begriffe Homothallie und Heterothallie als unterschiedliche Reproduktionsstrategien in dieser Gruppe (Blakeslee, 1904).



**Abb. 1: Phylogenetische Verwandtschaftsverhältnisse in der Gruppe der Opisthokonta.** (modifiziert nach James et al., 2006a; James, et al., 2006b; Li et al., 2011; Seif et al., 2005; Steenkamp et al., 2006)

Die meisten Zygomyceten, die sexuelle Entwicklung aufweisen, sind heterothallisch. Dazu gehören neben vielen anderen *Mucor mucedo*, *Mucor circinelloides* und *Parasitella parasitica* gehören zu den heterothallischen Pilzen. Bei heterothallischen Zygomyceten ist die Gametangiogamie durch die Verschmelzung der von (+)- und (-)-Kreuzungstyp

eines Zygomyceten gebildeten Gametangien gekennzeichnet. Aus dieser Struktur differenziert sich später die für Zygomyceten namensgebende Zygosporangium (Burgeff, 1924; Jones et al., 1981).

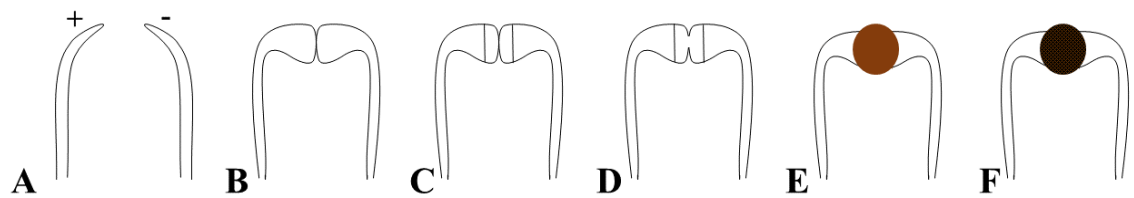
*Parasitella parasitica* zählt zudem zu den nicht seltenen Mycoparasiten anderer Zygomyceten. *Parasitella parasitica* zeichnet sich außerdem durch eine besondere Form des Mycoparasitismus, den so genannten biotrophen Fusionsparasitismus aus, der sich durch cytoplasmatische Fusion zwischen Wirt und Parasit auszeichnet. Am Ende der parasitischen Entwicklung entstehen in Interaktion mit einem Zygomyceten-Wirt wie im sexuellen Zyklus Dauersporen, die hier Sikyosporen heißen (Burgeff, 1924; Wöstemeyer et al., 1995).

Der in dieser Arbeit untersuchte *Zygorhynchus moelleri* gehört zu den homothallischen Zygomyceten. Hier finden sexuelle Vorgänge innerhalb des Myzels eines Individuums statt. Die Information zur Expression beider Kreuzungstypen muss sich somit im Gegensatz zu Heterothallischen im Myzel eines einzigen Individuums befinden.

Da Zygosporangien selten auskeimen, vermehren und verbreiten sich Zygomyceten hauptsächlich über vegetatives Myzelwachstum, sowie über interkalar angelegte Chlamydosporen und die Bildung von asexuellen Mitosporen in Sporangien.

### **2.1.1 Sexuelle Interaktion heterothallischer Zygomyceten**

Die meisten Zygomyceten sind heterothallisch und benötigen für die sexuelle Entwicklung zwei zueinander komplementäre Kreuzungstypen, die bei Zygomyceten durchgängig als (+) und (–) bezeichnet werden. Die Physiologie der sexuellen Entwicklung wurde bei *Mucor mucedo* und *Phycomyces blakesleeana* am besten untersucht (Sutter 1975; Schimek und Wöstemeyer 2009). Generell der morphologische Ablauf der sexuellen Entwicklung bei anderen Zygomyceten sehr ähnlich, wenngleich einzelne Stadien in jeder Spezies von unterschiedlicher Ausprägung sein können.



**Abb. 2: Schematische Darstellung der sexuellen Entwicklung von *Mucor mucedo*.** Zygophoren komplementärer Kreuzungspartner wachsen gerichtet aufeinander zu (A) und schwellen zu Progametangien an (B). Durch Septierung entwickeln sich zwei Gametangien, die zu einem Zygosporangium fusionieren und sich später zur Zygospore differenzieren. (Abbildung: Schulz et al., 2016a).

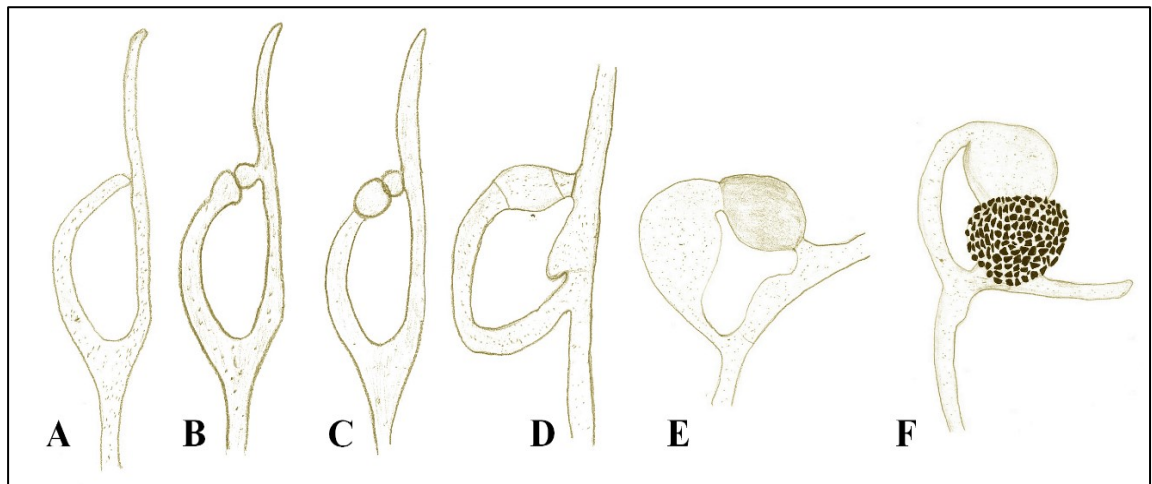
Zu Beginn der sexuellen Interaktion bei heterothallischen Zygomyceten wachsen die Spitzen sexuell determinierter Hyphen zweier komplementärer Kreuzungstypen gerichtet aufeinander zu. Dieses Phänomen wird als Zygotropismus bezeichnet (Abb. 2A). Diese spezialisierten Hyphen, auch Zygophoren genannt, schwellen an den Hyphenspitzen nach Kontakt mit dem Partner zu Progametangien heran (Abb. 2B). Dabei wandern Zellkerne in die aufgetriebene Hyphenspitze. Die Progametangien differenzieren sich über die Bildung eines Septums in je einen Suspensor, die Traghyph, und ein Gametangium pro Kreuzungstyp (Abb. 2C). Die Gametangien fusionieren zu einem Zygosporangium (Abb. 2D). Dies führt dazu, dass die Zellkerne beider Kreuzungspartner in der sich entwickelnden Zygospore aufeinandertreffen. Aus diesem Zygosporangium entwickelt sich die dunkel pigmentierte Zygospore, in der im Einzelfall ein nicht bekannter Anteil der Zellkerne fusioniert und im weiteren Verlauf die Meiose stattfindet (Abb. 2E, F; Bergman et al., 1969; Eslava et al., 1975; Wöstemeyer et al., 2016). Die Zygosporen aller in dieser Hinsicht untersuchten Zygomyceten keimen sehr selten, nämlich meist in unter 0,1 % der Fälle. Ihre evolutionäre Funktion besteht daher sicher weniger in der Vermehrung, sondern mutmaßlich eher in der Ausbildung weniger, dafür aber sehr langlebiger Dauersporen mit deutlich anderen Eigenschaften als die mitotischen Chlamydo- und Sporangiosporen (Schulz et al., 2016b; Wöstemeyer et al., 1995).

### 2.1.2 Sexuelle Interaktion in homothallischen Zygomyceten

Der in dieser Arbeit untersuchte Zygomycet *Zygorhynchus moelleri* gehört wie *Absidia spinosa*, *Mycotypha africana*, *Syzygites megalocarpus*, *Zygorhynchus heterogamus* und *Zygorhynchus exponens* zu den homothallischen, also selbst-fertilen, Zygomyceten. Die Gattung *Zygorhynchus* wurde von Vuillemin (1903) etabliert. Spezies dieser Gattung sind homothallisch und meist anisogam. Phylogenetische Studien basierend auf ITS- und LSU-Daten zeigten, dass die Gattung *Zygorhynchus* polyphyletisch ist. Daher wird

empfohlen *Zygorhynchus* in die Gattung *Mucor* zu integrieren (Walther et al., 2013). Da dies nicht umgesetzt wurde, bleibe ich in dieser Dissertation taxonomisch korrekt bei *Zygorhynchus moelleri*. Die Spezies *Zygorhynchus moelleri* wurde Anfang des 20. Jahrhunderts von A. Möller isoliert (Moeller, 1902, 1903).

Die sexuelle Entwicklung der homothallischen Zygomyceten unterscheidet sich von den Heterothallischen in der Hinsicht, dass hier kein weiterer komplementärer Kreuzungspartner eines anderen Individuums für die sexuelle Reaktion benötigt wird.



**Abb. 3: Stadien der Zygosporogenese von *Zygorhynchus moelleri*.** (A) Ausbildung eines Seitenastes, der gerichtet auf den Hauptast zuwächst (Zygotropismus). (B) Die Zygophoren schwellen zu Progametangien heran. (C) Durch Septierung entwickeln sich zwei Gametangien. (D) Die Gametangien fusionieren zu einem Zygosporangium. (E) Entwicklung einer jungen Zygospore. (F) Pigmentierung und Differenzierung zur fertigen Zygospore. (Zeichnungen von Jakob Schulz; Darstellung nach Webster, 1983).

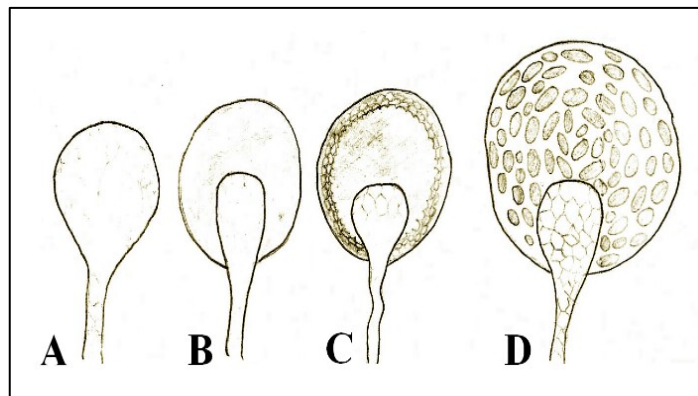
Bei *Zygorhynchus moelleri* verzweigt sich meist das Myzel an der Hyphenspitze und bildet einen Seitenast aus (Abb. 3A), welcher sich analog zur heterothallischen Situation als komplementärer Kreuzungsast zum Anderen verhält und (+)-Charakter aufweist (Satina und Blakeslee, 1930).

Der Seitenast wächst zygotrop auf den Hauptast zu (Abb. 3A). Wenn sich beide Äste treffen, kommt es wie bei heterothallischen Zygomyceten zur Anschwellung und Ausbildung von Progametangien (Abb. 3B), die sich später durch Septeneinzug zu zwei anisogamen Gametangien entwickeln (Abb. 3C; Edelman und Klomprens, 1995; Green, 1927).

Das Gametangium, das am Seitenast entsteht, ist meist das größere und wird als (–)-Gametangium bezeichnet. Der (–)-Ast wächst meist an der Hyphenspitze weiter (Abb. 3). Die Gametangien fusionieren zu einem Zygosporangium mit Mikro- und Makrosuspensor (Abb. 3D), welches später zur fertigen, dunkel-pigmentierten Zygospore differenziert (Abb. 3E, F) (Burgeff, 1924; Webster, 1983). Die Zygosporenwand der Gattung *Zygorhynchus* besitzt eine warzenartige Ornamentierung (O'Donnell et al., 1978).

### 2.1.3 Asexuelle Entwicklung der Zygomyceten

Die hauptsächliche Verbreitungsform sowohl heterothallischer als auch homothallischer Zygomyceten sind die mitotischen und folglich haploiden Sporangiosporen. Sie sind oft einkernig, können jedoch auch mehrere Kerne enthalten. Aus dem vegetativen, coenocytischen Bodenmyzel wachsen Sporangiphore, die an der Spitze ohne Septeneinzug anschwellen (Abb. 4A).



**Abb. 4: Stadien der Sporangiosporogenese von *Zygorhynchus moelleri*.** (A) Das terminale Ende einer Lufthyphes schwillt an. (B) Undifferenziertes Sporangium mit Cytoplasma und ausgebildeter Columella. (C) Sporenbildung im Protoplasma. (D) Ausdifferenziertes Sporangium mit Mitosporen. (Zeichnungen von Jakob Schulz; Darstellung nach Webster, 1983).

Hier entsteht das Sporangium. In Verlauf der weiteren Sporangienentwicklung werden Cytoplasma, Nährstoffe und Zellkerne akkumuliert. Dabei ist das Protoplasma weitestgehend unter der Sporangienwand lokalisiert (Abb. 4B). Vakuolen werden direkt im Zentrum des entstehenden Sporangiums gebildet. Nach Entwicklung einer Columella im Zentrum des Protoplasmas (Abb. 4B), teilt sich das Protoplasma in kleinere Kompartimente (Abb. 4C), welche später die Zellkerne enthalten und zu dunkel-pigmentierten Sporen differenzieren (Abb. 4D) (Edelmann und Klomparens, 1994). Die dunkle Pigmentierung resultiert vermutlich aus der oxidativen Polymerisierung von  $\beta$ -



Carotin zu Sporopollenin (Hocking, 1965; Gooday et al., 1973; Kawase und Takahashi, 1995). Die reifen Sporen keimen unter günstigen Bedingungen bei Raumtemperatur auf geeignetem Medium.

## 2.2 Carotin- und Trisporoid-Stoffwechsel

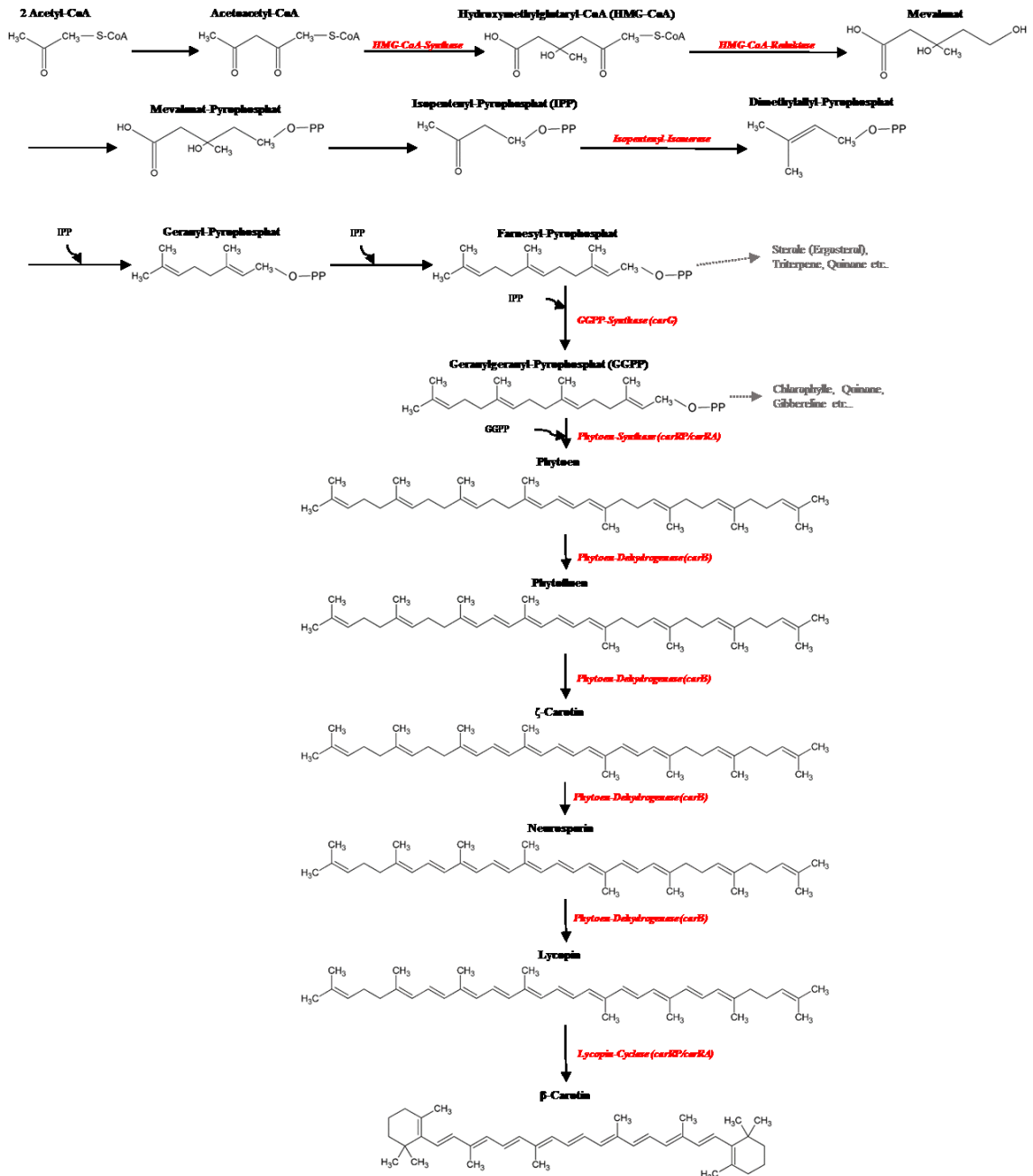
Der Phytoen-Dehydrogenase-Hemmstoff Diphenylamin hemmt nicht nur die Carotin-Biosynthese, sondern auch die Synthese von Trisporoiden, welche in der Erkennung der Kreuzungspartner während der sexuellen und parasexuellen Interaktion von Zygomyceten eine wichtige Rolle spielen (Austin et al., 1969). Die beiden Biosynthesewege müssen demzufolge miteinander korreliert sein. Diese Vermutungen wurden unter anderem dadurch unterstützt, dass Mutanten von *Phycomyces blakesleeanus*, mit Defekt in der Carotin-Synthese ebenfalls in ihrer sexuellen Entwicklung gestört sind (Heisenberg und Cerdá-Olmedo, 1968; Sutter, 1975). Deshalb wird in diesem Kapitel die Synthese von Carotin und deren Regulation näher beleuchtet.

### 2.2.1 $\beta$ -Carotin-Synthese

Carotinoide sind Terpene mit insgesamt 40 C-Atomen, die im zentralen Teil ein konjugiertes Doppelbindungssystem darstellen. Generell kann man Carotinoide in reine Kohlenwasserstoffe, also Carotine, ( $\beta$ -Carotin, Lycopin) und in oxydierte Carotin-Derivate, also Xantophylle, (Lutein, Zeaxanthin, Antheraxanthin) unterteilen.

$\beta$ -Carotin, das bekannteste Carotin, ist die Vorstufe von Vitamin A, das besonders für den Menschen von großer Bedeutung ist. In allen  $\beta$ -Carotin-Derivaten liegen die terminalen Isopreneinheiten als geschlossene Iononringe (Cyclohexen) vor.

Die meisten Mucor-artigen Zygomyceten bilden hauptsächlich  $\beta$ -Carotin. Zusätzlich werden zum Beispiel von *Mucor circinelloides* hydroxylierte Derivate, wie  $\beta$ -Cryptoxanthin und Zeaxanthin gebildet (Álvarez et al., 2006).



**Abb. 5: Biosynthese von  $\beta$ -Carotin.** Das Zwischenprodukt Mevalonat wird aus Acetyl-CoA aufgebaut und anschließend zu Isopentenyl-Pyrophosphat (IPP) phosphoryliert. IPP wird durch IPP-Isomerase zu Dimethylallyl-Pyrophosphat umgesetzt, das durch Verlängerungen der Seitenketten mit GPP-Synthase zu Geranylgeranyl-Pyrophosphat (GPP) umgewandelt wird. Aus GPP wird durch Phytoen-Synthase-Aktivität Phytoen, das mit Hilfe einer Phytoen-Dehydrogenase zu Lycopin oxidiert wird. Aus Lycopin wird mit Lycopin-Cyclase-Aktivität schließlich  $\beta$ -Carotin. (modifiziert nach Iturriaga et al., 2000).

Die  $\beta$ -Carotin-Synthese (Abb. 5) findet über den Mevalonatweg statt und beginnt mit Acetyl-CoA, das über Hydroxymethylglutaryl-CoA (HMG-CoA) zu Mevalonat umgesetzt wird (Kuzina et al., 2006; Lee und Schmidt-Dannert, 2003). Anschließend wird Mevalonat phosphoryliert und zu Isopentenyl-Pyrophosphat (IPP) carboxyliert. Durch Isomerisierung entsteht über die IPP-Isomerase Dimethylallyl-Pyrophosphat, das durch Seitenkettenverlängerung über Geranyl-Pyrophosphat und Farnesyl-Pyrophosphat schließlich mit Hilfe der GPP-Synthase (*carG*) zu Geranylgeranyl-Pyrophosphat (GPP) umgewandelt wird.

Durch die Phytoen-Synthase (*Phycomyces blakesleeanus*: *carRA*; *Mucor circinelloides*: *carRP*) entsteht Phytoen, das von der Phytoen-Dehydrogenase (*carB*) zu Lycopin umgewandelt wird. Umzyklisierung von Lycopin durch die Lycopin-Cyclase (*carRA/carRP*) führt zur Bildung von  $\beta$ -Carotin (Iturriaga et al., 2000).

Bei Pilzen wird sowohl die Synthese von Phytoen aus GPP als auch die Synthese von  $\beta$ -Carotin aus Lycopin von einem bifunktionellen Enzym mit Phytoen-Synthase- und Lycopin-Cyclase- Aktivität, katalysiert (Arrach et al., 2001; Velayos et al., 2000; Verdoes et al., 1999). Das CarRP-Protein in *Mucor circinelloides* besteht aus den beiden Domänen CarR am N-Terminus (Lycopin-Cyclase) und CarP am C-Terminus (Phytoen-Synthase), wobei die R-Domäne auch ohne die P-Domäne aktiv sein kann. Die P-Domäne benötigt jedoch zur Ausbildung ihrer aktiven Konformation die R-Domäne. In *Phycomyces blakesleeanus* sind die Produkte der Gene *carRA* (Lycopin-Cyclase) und *carB* (Phytoen-Dehydrogenase) in einem enzymatischen Komplex organisiert, der aus zwei Einheiten Lycopin-Cyclase und vier Einheiten Phytoen-Dehydrogenase besteht (Sanz et al., 2011). Generell wird der Mevalonatweg auch zur Sterol- und Ubiquitin-Synthese genutzt (Abb. 5).

### 2.2.2 Regulation des Carotin-Stoffwechsels

Einige Zygomyceten, etwa *Phycomyces blakesleeanus*, *Mucor circinelloides* oder *Blakeslea trispora*, akkumulieren sichtbare Mengen  $\beta$ -Carotin in ihrem Myzel. Diese Akkumulation wird durch verschiedene Faktoren, zum Beispiel einige chemische Substanzen (Kuzina und Cerdá-Olmedo, 2006), Kreuzung (Govind und Cerdá-Olmedo, 1986) sowie durch Licht reguliert (Bejarano et al., 1990).

Hauptsächlich wird die Carotin-Biosynthese in Pilzen durch Licht reguliert (Tisch and Schmoll, 2010). Bestrahlung mit blauem Licht führt dabei in *Blakeslea trispora* (Quiles-Rosillo et al., 2005), *Mucor circinelloides* (Navarro et al., 2001) und *Phycomyces blakesleeanus* (Bejarano et al., 1990) zur vermehrten Carotinproduktion.

Genauer betrachtet, induziert Blaulicht die Expression von *carG*, *carB* und *carRP* in *Mucor circinelloides* (Velayos, Blasco, et al., 2000; Velayos, Eslava, et al., 2000; Velayos et al., 2003).

Zusätzlich können Pilze, wie *Neurospora crassa* auf weitere Wellenlängen – von ultraviolettem bis zu tiefrotem Licht – reagieren. Dafür benötigen sie Photorezeptoren, wie Phytochrom, Opsin, White Collar 1 (WC-Protein), das Genprodukt von *vivid* beziehungsweise sogenannte Cryptochrome. Rotes bzw. dunkelrotes Licht wird von Phytochromen erkannt. Opsin wiederum reagiert auf Grünes Licht und WC-1, VIVID und Cryptochrome auf UV- Licht (Bieszke et al., 1999; Sharrock, 2008).

Zygomyceten verwenden zur Lichtrezeption ebenfalls WC-ähnliche Proteine, die zusammen einen WC-Komplex bilden. WC-1 ist sowohl ein Photorezeptor, als auch ein GATA- Zinkfinger Transkriptionsfaktor. Am C- Terminus befinden sich PAS

- Domänen (PER: „periodic clock protein“; ARNT: „aromatic hydrocarbon receptor nuclear translocator“; SIM: „*Drosophila* single minded“), die charakteristisch für Sensorproteine sind und in Protein-Protein-Interaktionen involviert ist, und einen Zink-Finger Transkriptionsfaktor (Abb. 6; Rodriguez-Romero et al., 2010).



**Abb. 6: Genereller Aufbau der white-collar (WC) Proteine von *Neurospora crassa*.** Die LOV-Domäne bindet lichtregistrierende Flavine, die PAS-Domäne dient der Proteininteraktion bzw. der Proteindimerisierung, Die Zinkfinger-Domänen binden die DNA. (modifiziert nach Corrochano und Garre, 2010)

Die PAS-A- Domäne gehört zu einer speziellen Klasse von Domänen, die Flavin (FAD) als Chromophor bindet (Rodriguez-Romero et al., 2010). Diese bezeichnet man als LOV (Light- Oxygen- Voltage), - Domäne, die sich im N- terminalen Bereich befindet.

WC-1 und der GATA- Zinkfinger Transkriptionsfaktor WC-2 bilden zusammen mit der PAS-Domäne einen WC-Komplex, den WCC: Nach bzw. während der Belichtung wird

das Chromophor von WC-1 kovalent an den Cystein-Rest der LOV- Domäne gebunden und somit aktiviert. Infolge dieser Aktivierung polymerisiert WC-1 und WCC bindet vorübergehend an definierte Elemente der Promotoren der Licht-responsiven-Genen und aktiviert dadurch deren Transkription. Dies geschieht innerhalb von 15 Minuten oder weniger nach der Belichtung.

Da der WCC in Ascomyceten im Zusammenhang mit der Induktion der Sporulation und der Protoperithezien-Entwicklung, dem Phototropismus von Perithezien, der Induktion der Carotinoid-Biosynthese und der Regulation der circadianen Uhr steht, kann man festhalten, dass WC-1 und WC-2 nahezu alle wichtigen Lichtreaktionen kontrollieren (Bodor et al., 2013; Harding und Melles, 1983; Harding und Turner, 1981; Nelson und Metzenberg, 1992; Rodriguez-Romero et al., 2010; Sargent und Briggs, 1967).

Es gibt in Ascomyceten, Basidiomyceten und Zygomyceten viele homologe und orthologe Gene zu *wc-1* und *wc-2*. Der WCC entstand somit höchstwahrscheinlich als Transkriptionsfaktorkomplex sehr früh in der Evolution (Herrera-Estrella und Horwitz, 2007).

In *Mucor circinelloides* kontrollieren drei homologe Gene des WC-1, nämlich *mcwc-1a*, *mcwc-1b* und *mcwc-1c*, verschiedene Reaktionen auf Lichteinwirkung (Silva et al., 2006). Da knock-out Mutanten von *Mucor circinelloides* im *mcwc-1c* Gen einen Defekt in der lichtinduzierten Carotin-Biosynthese besitzen, spricht vieles für die Funktion als Positivregulator von Mcwc-1c. Im Gegensatz dazu scheint das CrgA-Protein die Carotin-Biosynthese in *Mucor circinelloides* negativ zu regulieren. *ΔcrgA* Mutanten akkumulieren sowohl im Licht als auch im Dunkeln Carotin (Navarro et al., 2001). Vermutlich reguliert CrgA Mcwc-1b über Ubiquitinierung, da CrgA auf Aminosäuresequenzebene Ähnlichkeit mit Ubiquitin-Ligasen aufweist (Silva et al., 2008). CrgA reprimiert die Carotin-Biosynthese durch Hemmung der Akkumulation der mRNAs von *carB* und *carRP* (Lorca-Pascual et al., 2004).

In *Blakeslea trispora* wurde ein *crgA*-ähnliches Gen identifiziert, das im Transformationsexperiment die *ΔcrgA* Mutante von *Mucor circinelloides* wieder zum Wildtyp komplementiert (Quiles-Rosillo et al., 2005).

In *Phycomyces blakesleeanus* wird die Transkription von *carRA* und *carB* unter Lichteinfluss verstärkt (Almeida und Cerdá-Olmedo, 2008). Auch in *Phycomyces blakesleeanus* wurden WC-homologe Gene identifiziert: *madA* und *madB* (Idnurm et al.,

2006; Sanz et al., 2009). MadA weist Homologie zum WC-1 Protein auf, während MadB ein WC-2 Homolog ist. MadA und MadB bilden zusammen einen Photokomplex (Sanz et al., 2009). Mutationen im *madA* Gen beeinträchtigen hier die Carotinbildung im Myzel, was ebenfalls für eine regulatorische Funktion dieses Genes spricht (Corrochano und Cerdá-Olmedo, 1992).

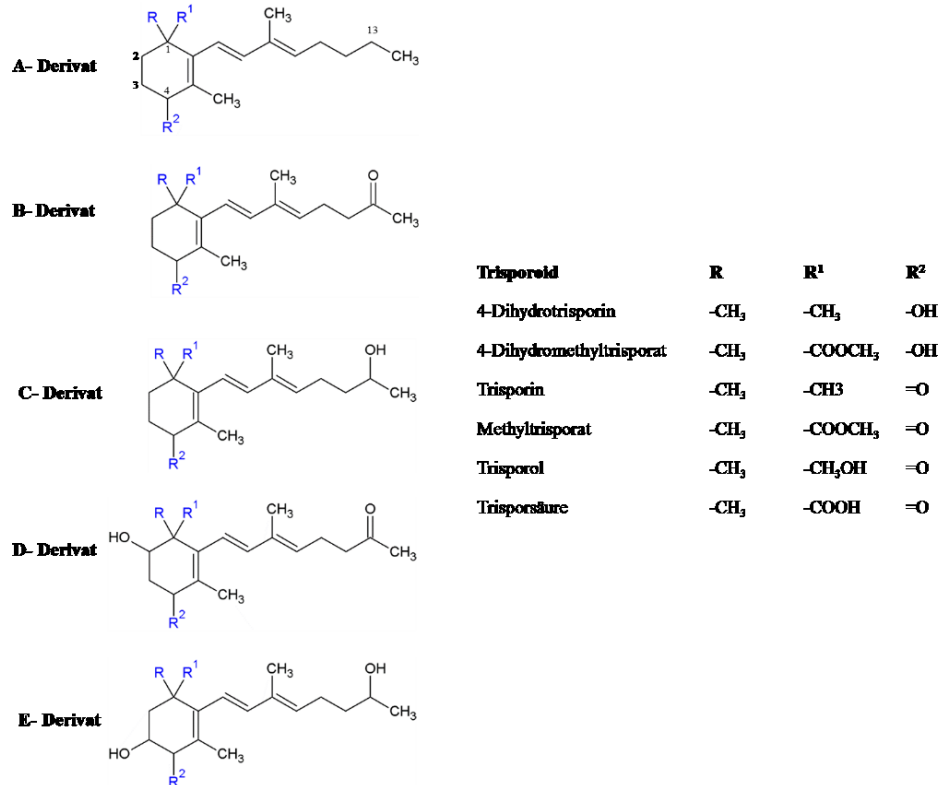
### 2.2.3 Trisporoide als Sexualhormone

Für die Erkennung der Kreuzungspartner der Zygomyceten untereinander sind verschiedene Derivate von Trisporoiden verantwortlich (Gooday, 1978). Burgeff, 1924 stellte als Erster die Beteiligung von volatilen und diffusionsfähigen pheromonähnlichen Substanzen bei der sexuellen Entwicklung als These auf, da die sexuelle Differenzierung auch bei Trennung der komplementären Kreuzungspartner von *Mucor mucedo* durch eine Membran voneinander stattfindet. Es findet ein Austausch der Trisporoide über Diffusion durch das Medium und die Luft statt (Sutter et al., 1973; Werkman und van den Ende, 1974). Caglioti *et al.*, identifizierte erstmals die chemische Struktur der Trisporsäure (Caglioti et al., 1965). Da nicht alle für die Trisporoid-Synthese notwendigen Enzyme allein von einem Kreuzungspartner bereitgestellt werden können, kann das Sexualhormon Trisporsäure nur gebildet werden, wenn beide Kreuzungspartner in unmittelbarer Nähe zueinander kultiviert werden.

Nicht nur in *Mucor mucedo*, sondern auch in anderen heterothallischen Mucorales, wie *Phycomyces blakesleeanus* und *Blakeslea trispora* konnte die Induktion der sexuellen Entwicklung über Trisporsäure und Trisporoide als Sexualhormone nachgewiesen werden (Schipper, 1973).

Homothallische Zygomyceten, wie *Zygorhynchus moelleri*, verwenden ebenfalls Trisporoide zur Erkennung der komplementär agierenden Seitenäste während der sexuellen Interaktion (Werkman und van den Ende, 1974; Werkman, 1976). Für die Erkennung während der parasexuellen Interaktion des Mycoparasiten *Parasitella parasitica* mit komplementären Partnern des Wirtes sind Trisporoide in gleicher Weise maßgeblich (Wöstemeyer et al., 1995).

Trisporoide sind oxygenierte C<sub>18</sub>-und C<sub>19</sub>- Derivate von β-Carotin (Caglioti et al., 1965). Von der Trisporinsäure und deren Vorstufen gibt es verschiedene Spezies-spezifische Derivate, die als A, B, C, D und E bezeichnet werden, und in mehreren Isomeren vorliegen können (Schimek und Wöstemeyer, 2009).

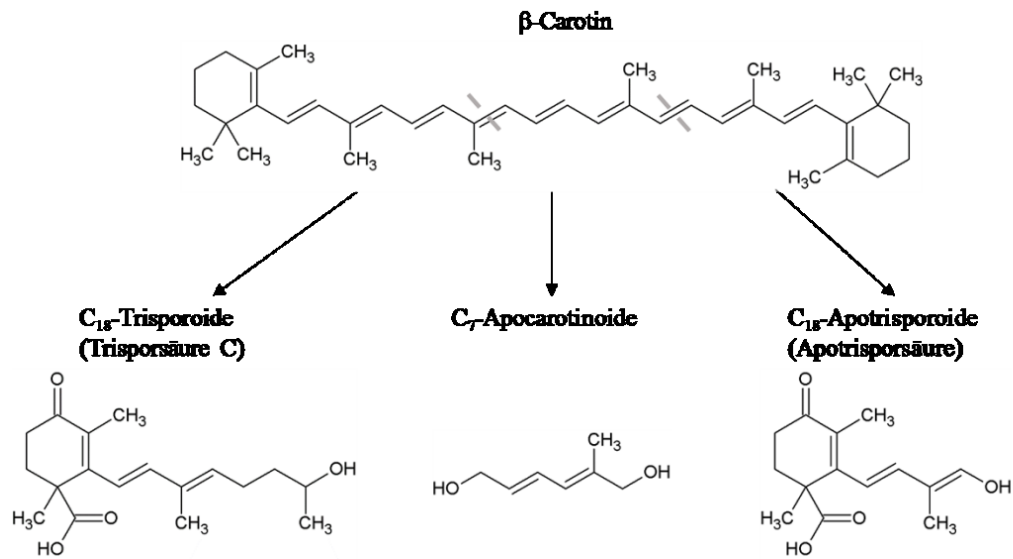


**Abb. 7: Trisporoid-Derivate von Zygomyceten.** Die Substituenten an C<sub>4</sub> und C<sub>1</sub> definieren die Molekularart. Substituenten an C<sub>2</sub>, C<sub>3</sub> und C<sub>13</sub> definieren die Derivate A, B, C und D. (modifiziert nach Schimek und Wöstemeyer 2009)

Die Isomere unterscheiden sich in den Modifikationen der Substituenten voneinander (Abb. 7 B, C). Trisporoide kommen generell bei Zygomyceten am häufigsten vor (Caglioti et al., 1965; Sutter et al., 1989). Die Derivate A, B und C kommen hauptsächlich bei *Blakeslea trispora* vor, während D und E in *Phycomyces blakesleeanus* vorhanden sind. Welche Trisporoid-Derivate in *Zygorhynchus moelleri* vorkommen, ist noch unbekannt.

Der erste Schritt der Trisporoid-Synthese ist die Spaltung von β-Carotin durch eine Carotin-Oxygenase. Über mehrere, auf Enzymebene nicht untersuchte Reaktionen entsteht 4-Dihydrotrisporin. Bis hierhin verläuft der Reaktionsweg bei beiden Kreuzungspartnern gleich (Abb. 8). Austin et al. (1969) stellten die Hypothese auf, dass die Synthese von Trisporinsäure von β-Carotin über Retinal erfolgt. Barrero et al. (2011)

fanden später heraus, dass  $\beta$ -Carotin zweimal gespalten wird, um die ersten Trisporoide zu bilden.



**Abb. 8: Spaltung von  $\beta$ -Carotin in Trisporoide, Apocarotinoide und Apotrisporoide.** (modifiziert nach Barrero et al., 2011)

Dabei entstehen unter anderem  $C_7$ - (Apocarotinoide) und  $C_{15}$ - Moleküle (Apotrisporoide) (Abb. 8). Burmester et al. (2007) identifizierten in *Blakeslea trispora* das Carotinoxgenase-Gen *tsp3*. In *Phycomyces blakesleeanus* wurde ein entsprechendes Gen gefunden, das ebenfalls für eine Carotinoxgenase kodiert, und als *carS* bezeichnet (Tagua et al., 2012).

Nach dem oxidativen Abbau von  $\beta$ -Carotin zu 4-Dihydrotrisporin (DHTn) unterteilt sich der weitere Trisporoid-Syntheseweg in beiden Kreuzungstypen (Abb. 9). Während der (+)-Kreuzungstyp aus 4- DHTn 4-Dihydromethyltrisporat bildet, katalysiert das Enzym 4-Dihydrotrisporin-Dehydrogenase (*tsp2*-Gen) die Bildung von Trisporin im (–)-Kreuzungstyp (Wetzel et al., 2009).

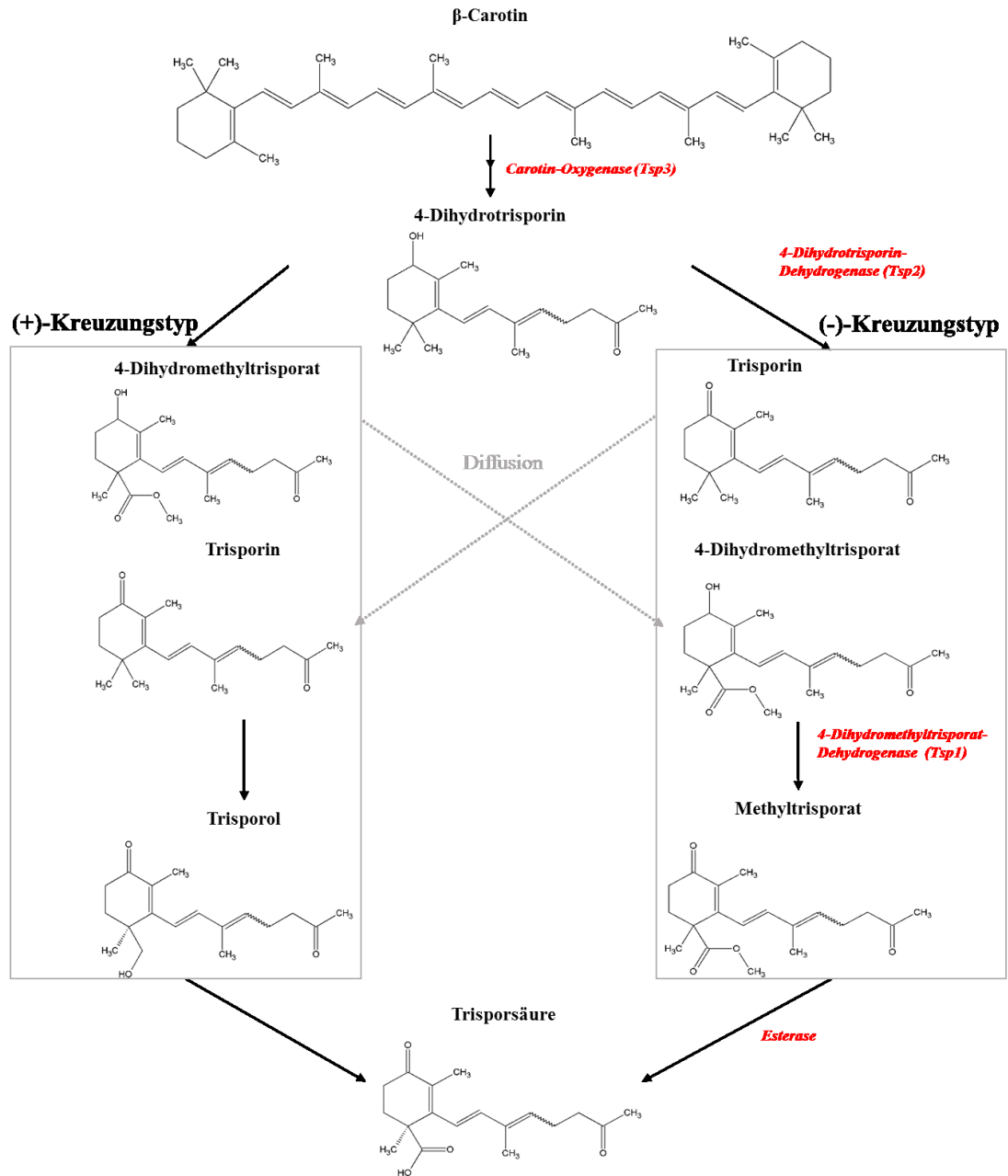
Diese beiden Produkte, Trisporin und 4-Dihydromethyltrisporat, sind kreuzungstypspezifische Zwischenprodukte, die nicht weiter umgesetzt werden können. Stattdessen diffundieren sie, werden vom komplementären Kreuzungspartner aufgenommen und werden dort über weitere Zwischenprodukte in Trisporinsäure umgewandelt.



Der (–)-Kreuzungstyp bildet mit Hilfe des Enzyms 4-Dihydromethyltrisporat-Dehydrogenase, dem Produkt des *tsp1*-Gens, aus 4-Dihydromethyltrisporat Methyltrisporat, das über eine Esterase in Trisporsäure umgewandelt wird (Czempinski et al., 1996; Nieuwenhuis und van den Ende, 1975; Schimek et al., 2005; Werkman, 1976). Der (+) -Kreuzungstyp oxidiert Trisporin zu Trisporol und wandelt dieses über noch unbekannte Oxidasen in Trisporsäure um. Die Trisporsäure ist von allen Trisporoiden das vielseitigste Sexualhormon der Zygomyceten. Sie induziert die Synthese von  $\beta$ -Carotin und einiger ihrer Derivate (van den Ende, 1968; Werkman und van den Ende, 1974) und induziert in beiden Kreuzungstypen die ersten Schritte der sexuellen Entwicklung.

Die Regulation beider für den (–)-Kreuzungstyp spezifischen Gene *tsp1* und *tsp2* wurde später genauer untersucht. Die Expression von TnDH und TDH wird in *Mucor mucedo* auf posttranslationaler Ebene reguliert (Czempinski et al., 1996; Schimek et al., 2005; Wetzel et al., 2009).

Die Regulation beider für den (–)-Kreuzungstyp spezifischen Gene *tsp1* und *tsp2* wurde später genauer untersucht. Die Expression von TnDH und TDH wird in *Mucor mucedo* auf posttranslationaler Ebene reguliert (Czempinski et al., 1996; Schimek et al., 2005; Wetzel et al., 2009).



**Abb. 9:** Synthese der Trisporoide bei dem Zygomyceten *Mucor mucedo*. (modifiziert nach Nieuwenhuis und van den Ende, 1975; Werkman, 1976)

Trisporol, Trisporin, Methyltrisporat und 4-Dihydromethyltrisporat induzieren die Zygophorenbildung bei *Mucor mucedo* und *Phycomyces blakesleeana* (Mesland et al., 1974). In einigen Fällen wird die Zygophorenbildung auch dann beobachtet, wenn beide Kreuzungspartner separiert voneinander wachsen. Trisporin und 4-Dihydromethyltrisporat sind im Gegensatz zur Trisporinsäure flüchtig und gehen bei der Erhöhung der Wachstumstemperatur zu erheblichen Anteilen in die Gasphase über (Banbury, 1954; Burgeff, 1924). Trisporol und, noch deutlich mehr, die Trisporinsäure sind

wesentlich hydrophiler und diffundieren entweder über das Medium oder müssen extern zugegeben werden, um eine Reaktion hervorzurufen.

## 2.3 Sex-Loci von Pilzen

Sexuell aktive Pilze sind entweder heterothallisch, also selbst-steril, oder homothallisch, selbst-fertil. Die sexuelle Interaktion findet in heterothallischen Pilzen zwischen zwei genetisch unterschiedlichen, jedoch zueinander kompatiblen Myzelien statt. Hierbei unterscheiden sich die beiden Individuen morphologisch nicht oder nur sehr wenig voneinander. Auf Genomebene besitzen beide Partner einen für den jeweiligen Kreuzungstyp und Organismus charakteristischen Locus. Dieser wird aufgrund seiner Funktion als „mating-type locus“ (*MAT*-Locus) bezeichnet. Die beiden *MAT*-Loci zweier sexuell kompatibler Individuen einer Spezies sind auf Sequenzebene sehr unterschiedlich, sind folglich nicht allelisch und werden daher auf der Basis von Studien an *Neurospora crassa* als Idiomorphe bezeichnet (Metzenberg und Glass, 1990).

Generell haben Pilze entweder bipolare oder tetrapolare Kreuzungspartner-Systeme (Kellner et al., 1993). Während in Zygomyceten und Ascomyceten die sexuelle Interaktion über das bipolare System abläuft, treten in Basidiomyceten beide Systeme auf.

### 2.3.1 Der *MAT*-Locus der Ascomyceten

Bei den, im Vergleich zu Zygomyceten phylogenetisch jüngeren, Ascomyceten findet die Ascusbildung zwischen zwei Individuen mit komplementären Kreuzungstypen statt. Wie bei den Zygomyceten gibt es auch homothallische Spezies. Die Kreuzungsfähigkeit von Ascomyceten wird über sogenannte *MAT*-Gene kontrolliert (Herskowitz 1988; Butler 2007; Debuchy et al. 2010). Die Nomenklatur der Gene, die am *MAT*-Locus kodieren, differiert etwas zwischen den Spezies. Das Idiomorphie-Prinzip gilt hier durchgängig. Üblich sind die Bezeichnungen *MATa*, *MATα*, *MATa*, *MATα*; *mat+*, *mat-*; *MAT1-1*, *MAT1-2* (Pöggeler und Kück, 2000). Die hauptsächliche Funktion in der Kreuzungstyp-Idiomorphie besteht darin, Selbstfertilisation und Karyogamie zwischen identischen Kreuzungspartnern zu verhindern.

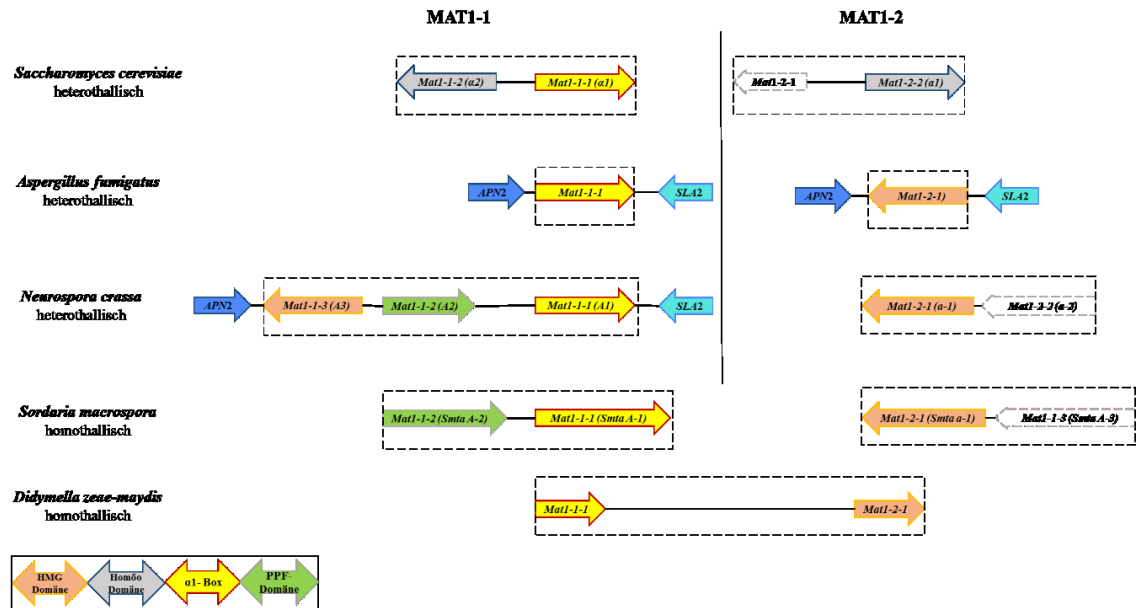
Das zugrundeliegende Prinzip der Kreuzungstypdetermination von Ascomyceten ist trotz der Unterschiede im Detail sehr ähnlich und wird am Beispiel von *Saccharomyces*

*cerevisiae* leicht deutlich (Abb. 10). Am *MAT*-Locus kartieren die Gene für Transkriptionsfaktoren und liegen auf transponierbaren Genkassetten, *HML $\alpha$*  („Hidden Mat Left“) und *HMR $\alpha$*  („Hidden Mat Right“), was zur Folge hat, dass *Saccharomyces cerevisiae* zum Teil einen phänotypisch homothallischen Lebenszyklus aufweisen kann („mating type switch“; Haber, 2012).

Der Kreuzungstyp *MAT $\alpha$*  von *Saccharomyces cerevisiae* kodiert für die beiden Polypeptide  $\alpha 1$  und  $\alpha 2$ . Während  $\alpha 1$ -Protein eine  $\alpha 1$ - Domäne, welche zur HMG-Superfamilie gehört, enthält, kodiert das  $\alpha 2$ - Protein für eine Homöobox (Astell et al., 1981; Bustin, 2001). Das  $\alpha 1$  Protein fungiert als ein Positiv-Regulator der Transkription  $\alpha$ -spezifischer Pheromone in haploiden *MAT $\alpha$*  Zellen, während das  $\alpha 2$ -Protein ein Negativ-Regulator für die Transkription  $\alpha$ -spezifischer Gene ist (Bardwell, 2004; Klix et al., 2010). Zusätzlich aktiviert es die Produktion des  $\alpha$ -Pheromon-Rezeptors (*Ste3*-Gen). Der Transkriptionsfaktor *Ste12* ist ebenfalls in die Transkriptionsregulation von  $\alpha$ -spezifischen Genen nach Pheromoninduktion involviert (Johnson, 1995).

*MAT1-2* kodiert für die beiden Protein  $\alpha 1$  und  $\alpha 2$ . Das Protein  $\alpha 1$  kodiert ebenfalls für eine Homöobox. In den meisten heterothallischen Ascomyceten sind diese beiden Proteine Regulatoren für die sexuellen Entwicklung des Kreuzungstyps (Debuchy und Turgeon, 2006; Pöggeler, 2001; Souza et al., 2003).

Homothallische Ascomyceten, wie *Sordaria macrospora* und *Didymella zae-maydis*, besitzen in ihrem Genom ebenfalls *MAT*-Loci. Oft werden bei Homothallischen Homologe zu den typischen *MAT*-Genen von nahe verwandten heterothallischen Arten gefunden (Lin und Heitman, 2007). Die Gene der Idiomorphe können dabei entweder auf einem Locus, miteinander verlinkt oder gar fusioniert, oder nicht-verlinkt an verschiedenen Stellen im Genom auftreten (Galagan et al., 2005; Pöggeler and Kück, 1997; Wilson et al., 2015; Yun et al., 1999).



**Abb. 10:** Vergleich der *MAT*-Loci (gestrichelter Kasten) und deren Umgebung einiger repräsentativer homo- und heterothallischer Ascomyceten. Die Kreuzungstypen der Ascomyceten werden als MAT1-1 und MAT1-2 bezeichnet. Bis auf *Saccharomyces cerevisiae*, welcher in beiden *MAT*-Loci jeweils eine Homöo-Domäne trägt, beinhalten die restlichen dargestellten Ascomyceten neben der α1-Box zusätzlich eine HMG-Domäne MAT1-1 von *Aspergillus fumigatus* und *Neurospora crassa*, sowie MAT1-2 von *Aspergillus fumigatus* sind umgeben von einem DNA Lyase orthologen Gen von *Saccharomyces cerevisiae* (*APN2*) und *SLA2* Gen. Die kodierende Funktion der Gene mit PPF Domäne ist bis jetzt nicht bekannt. Bei den homothallischen Vertretern der Ascomyceten, *Sordaria macrospora* und *Didymella zea-maydis*, sind sowohl Teile des *MAT1-1*-Locus als auch des *MAT1-2*-Locus vorhanden, mit dem Unterschied, dass *MAT1-1-1*- und *MAT1-2-1* in *Didymella zea-maydis* auf demselben Scaffold liegen (modifiziert nach Klix et al., 2010; Martin et al., 2010; Yun et al., 2013).

Auf genetischer Ebene wird bei primär homothallischen Spezies sowohl das *MAT1-1-1* Gen (α-Domäne) als auch das *MAT1-2-1* Gen (HMG-Domäne) in einem einzelnen Genom/ Zellkern exprimiert.

Sequenzanalysen des homothallischen *Didymella zea-maydis* zeigten, dass der *MAT*-Locus sowohl die Gene *MAT1-1-1* als auch *MAT1-2-1* beinhaltet (Abb. 10). Diese sind nacheinander geschaltet und durch eine intergenische Region mit einer Größe von 1 kb voneinander getrennt (Yun et al., 2013).

Inaktiviert man in *Didymella zea-maydis* *MAT1-1-1* so sind die erhaltenen Mutanten steril. Sie bilden keine Ascosporen mehr aus. Inaktiviert man dagegen *MAT1-2-1* bilden die Mutanten weniger Ascosporen aus als der Wildtyp. Beide Gene sind also für den sexuellen Prozess von *Didymella zea-maydis* notwendig. Aber nur *MAT1-2-1* ist in der Lage Homothallie zu induzieren (Yun et al., 2013).

Im Gegensatz dazu befinden sich die Gene für beide Kreuzungstyp-Loci an verschiedenen Stellen des Genoms von *Sordaria macrospora* und ähnelt in der Sequenz den *MAT*-Genen von *Neurospora crassa* (Pöggeler und Kück, 2000). Der Kreuzungstyp-Locus von *Sordaria macrospora* besteht aus drei bekannten *MAT*-Genen: *MAT1-1-1* (*SmtaA-1*;  $\alpha$  Box), *MAT1-1-2* (*SmtaA-2*; PPF-Domäne) und *MAT1-2-1* (*Smtaa-1*; HMG-Domäne). Zusätzlich trägt *Sordaria macrospora* das für den Kreuzungstyp *MAT1-1* in *Neurospora crassa* typische Gen *MAT1-1-3* im Kreuzungstyp-Locus (*SmtaA-3*). In diesem Gen befindet sich jedoch nicht die für *MAT1-1-3* typische HMG-Domäne.

Einige Ascomyceten, wie *Podosporea anserina*, werden als sekundär homothallisch bezeichnet. Dieses Phänomen kennzeichnet sich dadurch aus, dass die beiden Kreuzungstyp-Gene, *mat+* und *mat-*, auf zwei Zellkerne aufgeteilt werden, was darin resultiert, dass im auskeimenden Myzel die genetische Information beider Kreuzungstypen vorhanden sind und zur Ascusbildung führt (Bidard et al., 2011).

Die Kreuzungstypen von Ascomyceten erkennen sich wie Zygomyceten mit Hilfe von Pheromonen, deren Expression Kreuzungstyp-spezifisch ist. Dabei sind die Pheromone von Transkriptionsfaktoren, die im Kreuzungstyp-Locus kodiert werden, abhängig (Shen et al., 1999; Zhang et al., 1998). In homothallischen Ascomyceten wurden ebenfalls Pheromone und deren Rezeptoren entdeckt, welche ebenfalls für die sexuelle Entwicklung von *Sordaria macrospora* essentiell sind (Mayrhofer et al., 2006).

### 2.3.2 Der *MAT*-Locus der Basidiomyceten

Die Kreuzungspartner von Basidiomyceten werden wie bei Ascomyceten ebenfalls über spezifische *MAT*-Loci definiert. Ein Kreuzungstyp wird dabei durch zwei unabhängige Loci, *MATA* und *MATB*, determiniert. Wie bei den Ascomyceten gibt es Systeme, in denen zwei Kreuzungstyp-Gene vorhanden sind (bipolar). Zusätzlich gibt es tetrapolare Systeme, die dadurch gekennzeichnet sind, dass der Kreuzungstyp von zwei unabhängigen, nicht gekoppelten Loci definiert wird, was zur Folge hat, dass nach der Meiose vier verschiedene Kreuzungstypen aus verschiedenen Kombinationen der beiden *MAT*-Loci resultieren (David-Palma et al., 2016). Für beide Gene können mehrere (bis zu 1000) Varianten (Allele) in einem Kreuzungstyp vorkommen (Kües et al., 2011). Der heterothallische Basidiomycet *Schizophyllum commune* besitzt beispielsweise insgesamt mehr als 20.000 verschiedene Kreuzungstypen (Kothe, 2002).

Grundsätzlich sind sich die *MAT*-Loci von Basidiomyceten im Aufbau sehr ähnlich. *MATA* Gene kodieren für Homöo-Domänen Transkriptionsfaktoren (HD1 und HD2), die zusammen ein Heterodimer bilden können, welches die sexuelle Entwicklung auf nach der Kreuzungstyperkennung auf Basis morphologischer Änderungen, wie die Bildung eines dikaryotischen Myzels, reguliert (David-Palma et al., 2016; Kämper et al., 1995; Kües et al., 2011; Lee et al., 2010) *MATB* kodiert für Pheromone und deren G-Protein gekoppelte 7-Transmembranrezeptoren STE3 (P/R; Kües et al., 2011; Raudaskoski und Kothe, 2010). Sowohl P/R als auch HD1/HD2 laufen unabhängig voneinander ab, was zur Folge hat, dass die Kreuzung nur stattfindet, wenn die Kreuzungstypen in diesen beiden Punkten kompatibel zueinander sind (David-Palma et al., 2016; Fraser et al., 1996; Kües et al., 2011; Lee et al., 2010).

Der Kreuzungstyp-Locus homothallischer Basidiomyceten ist bis bisher noch nicht umfangreich untersucht worden. Im Prinzip beinhaltet der *MAT*-Locus Homothallischer ein kompatibles P/R Paar und ein HD1/HD2 Paar, während bei homothallischen Ascomyceten alle Transkriptionsfaktor-Gene beider *MAT*-Loci in einem einzelnen Individuum auffindbar sind (David-Palma et al., 2016).

### 2.3.3 *Sex*-Locus der Zygomyceten

Um die Evolution der sexuellen Interaktion der Kreuzungspartner nachzuvollziehen, ist es unerlässlich, die Faktoren und Gene, welche in die sexuelle Entwicklung der Zygomyceten involviert sind, näher zu betrachten. Genetische Kreuzungen von *Phycomyces blakesleeanus* (Alvarez et al., 1980) und *Rhizopus stolonifer* (Gauger, 1977) stützen die Vorstellung, dass die Kreuzungsidentität als (+) oder (–) von einem einzigen Kreuzungstyplocus bestimmt wird.

Auf dieser Basis und mit der Vermutung, dass der Kreuzungstyplocus bei Zygomyceten wie bei Asco- und Basidiomyceten ebenfalls Gene für Transkriptionsfaktoren ähnlichen Typs enthalten könnte, wurde der hier mit der Bezeichnung *sex* versehene Locus in dem heterothallischen Zygomyceten *Phycomyces blakesleeanus* identifiziert (Idnurm et al., 2008). Die Loci wurden nach ihrem Vorkommen im Genom des (+) - und (–) - Kreuzungstyps *sexP* (+) und *sexM* (–) benannt. *SexP* hat eine Größe von 5,8 kb und kodiert für ein HMG-Protein. *SexM* ist mit 3,4 kb kleiner als *sexP* und kodiert ebenfalls für ein HMG-Protein (Idnurm et al., 2008).

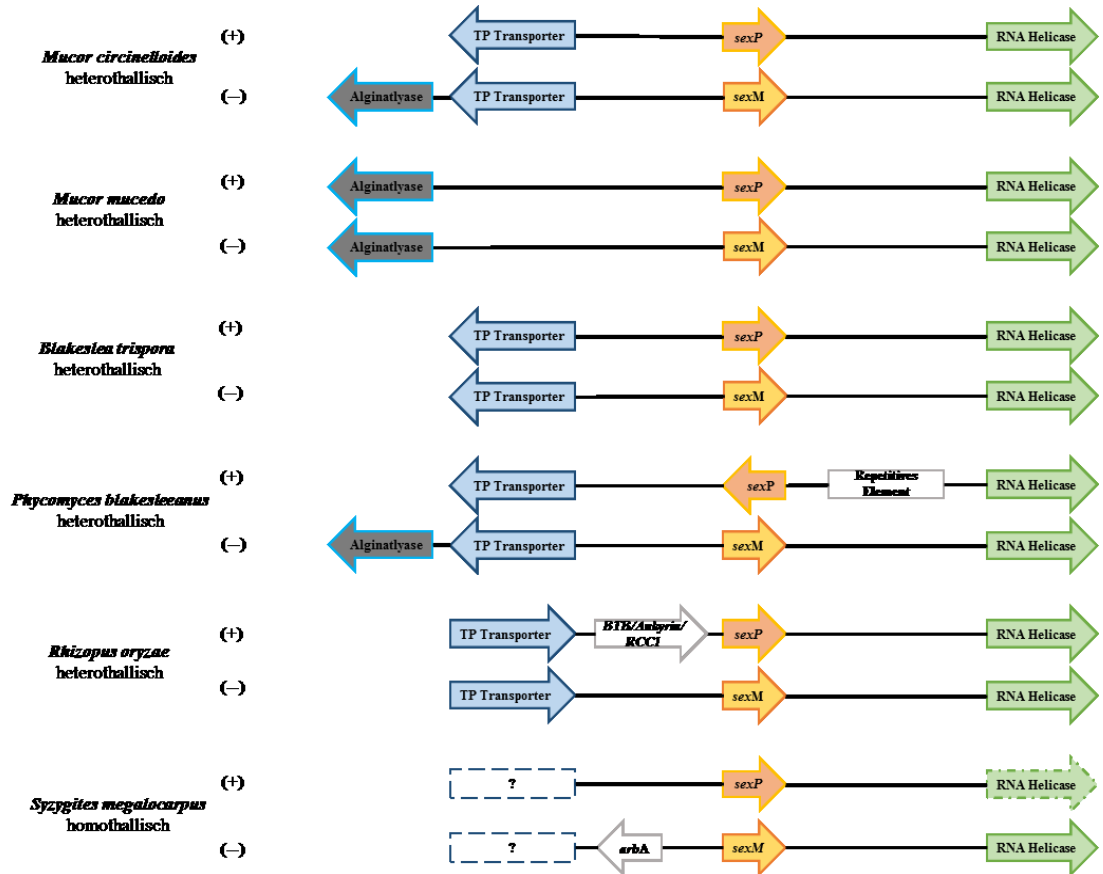
Da *sexM* und *sexP* in *Phycomyces blakesleeanus* auf Sequenzebene ähnlich sind, hat man vermutet, dass es sich bei den *sex*-Loci um Homologe handelt (Idnurm et al., 2008). Dies unterscheidet die *sex*-Gene der Zygomyceten von Ascomyceten, wo beide Transkriptionsfaktor-Gene starke Sequenzunterschiede aufweisen und als Idiomorphe charakterisiert wurden.

In der Folge wurden die Erkenntnisse bei *Phycomyces blakesleeanus* auf andere Pilze der *Mucor*-Verwandtschaft ausgeweitet, nämlich auf *Mucor circinelloides*, *Mucor mucedo* und *Rhizopus delemar* als heterothallische Zygomyceten sowie *Syzygites megalocarpus* als bis dato einzigen Vertreter der homothallischen Zygomyceten (Gryganskyi et al., 2010; Idnurm, 2011; Li et al., 2011; Wetzels et al., 2012).

Der *sex*-Locus von *Phycomyces blakesleeanus* beinhaltet in beiden Kreuzungspartnern je ein Gen für ein Protein mit HMG Domänen, die SexM und SexP Transkriptionsfaktoren. Diese beiden *sex* Allele liegen zwischen hoch konservierten Genen, die für eine RNA Helicase (*rnhA*) und einen Triosephosphat-Transporter (*tptA*) kodieren (Abb. 11; Idnurm et al., 2008). Man spricht daher meist von einer Syntanie.

Eine ähnliche Syntanie wurde in den *sex*-Loci von *Rhizopus oryzae* und *Rhizopus delemar* nachgewiesen, wobei hier der (+)-Kreuzungstyp ein Gen für ein BTB/POZ (Broad-Komplex, Tramtrack und Bric-a-brac/Poxvirus, Zinkfinger) Domänen Protein und eine Ankyrin (*arbA*) Domäne in direkter Nähe von *sexP* trägt. Die oben beschriebene Syntanie ist bei *Rhizopus* dementsprechend zwar vorhanden, aber durch das Vorhandensein von *arbA* zwischen SexP und Triosephosphat Transporter verändert.





**Abb. 11: Struktur der Sex Loci einiger homo- und heterothallischer Mucorales.** Die HMG Domänen kodierenden Gene *sexM* und *sexP* sind bei *Mucor circinelloides*, *Blakeslea trispora*, *Phycomyces blakesleeanus* und *Rhizopus oryzae* von einer RNA Helicase und einem Triosephosphat (TP) Transporter umgeben (Camino et al., 2015; Gryganskyi et al., 2010; Idnurm et al., 2008; Lee et al., 2008). Der TP Transporter fehlt sowohl in den vorhandenen Sequenzen von *Mucor mucedo* als auch in dem homothallischen Zygomyceten-Vertreter *Syzygites megalocarpus* (Idnurm, 2011; Wetzel et al., 2012). In unmittelbarer Nähe von *sexM* und *sexP* liegt bei beiden Kreuzungstypen von *Mucor mucedo* ein Gen für eine Alginatlyase. Dieses Gen konnte ebenfalls in den Minus-Kreuzungstypen von *Mucor circinelloides* und *Phycomyces blakesleeanus* ausfindig gemacht werden. Im Kreuzungstyplocus von *Syzygites megalocarpus* konnte weder ein TP Transporter noch ein Gen für eine Alginatlyase identifiziert werden. Das RNA Helicase Gen neben *sexP* fungiert hier als Pseudogen.

Zusätzlich wurde in näherer Genumgebung der Kreuzungstyp-Loci von *Mucor circinelloides*, *Mucor mucedo* und *Phycomyces blakesleeanus* ein Gen für eine mutmaßliche Alginatlyase gefunden. Das Gen für den Triosephosphat Transporter fehlt bei beiden Kreuzungstyp-Loci von *Mucor mucedo*. Die oben erwähnte Syntanie findet sich folglich nicht in allen *Mucor*-Verwandten.

In dem homothallischen Pilz *Syzygites megalocarpus* findet man die oben beschriebene Syntanie (*tptA/ algL/ HMG Kasette/ rnhA*) dupliziert auf wahrscheinlich zwei unterschiedlichen Chromosomen wieder (Idnurm, 2011). Generell zeigt *Syzygites*

*megalocarpus* einen ähnlichen *sex*-Locus-Aufbau wie die phylogenetisch verwandten *Rhizopus* Spezies. Allerdings sitzt hier das *arbA* Gen neben dem *sexM* Allel. In diesem Pilz befindet sich ein Glutathion-Reduktase Gen (*glrA*) neben *rnhA*. Dieses *glrA* Gen ist in seiner intakten, kompletten Form am *sexP* Locus vorhanden. Am *sexM* Locus hat es den Charakter eines Pseudogens (Idnurm, 2011). Das Gen für die RNA Helicase *rnhA* ist in ebenfalls doppelt vorhanden, ist jedoch am *sexP*-Locus aufgrund diverser Insertionen und Deletionen ein Pseudogen (Idnurm, 2011).

Bis heute sind sowohl Funktion als auch insbesondere die Target-Gene der Transkriptionsfaktoren SexP und SexM nicht bekannt. Zumindest für *sexM* ist bekannt, dass es für die sexuelle Entwicklung von Zygomyceten notwendig ist, da eine  $\Delta$ *sexM* Mutante von *Mucor circinelloides* weder mit einem (+)- noch mit einem (-)-Kreuzungstyp zu kreuzen (Li et al., 2011). Studien in *Mucor mucedo* zeigten, dass die Transkriptionsniveaus beider HMG-Transkriptionsfaktoren nicht nur durch die Pheromone, sondern auch im Verlauf des Kreuzungsverlaufs erhöht werden (Wetzel et al., 2012).

Auch in den als asexuell bekannten Schwestergruppen der Zygomyceten, den phylogenetisch älteren Microsporidia und den jüngeren Glomeromycota, wurden *sexM* und *sexP*-ähnliche Gene gefunden. In *Glomus cerebriforme* und *Rhizophagus irregularis* existieren viele verschiedene *sexM* Gene, während nur eine einzelne *sexP* Sequenz identifiziert werden konnte (Halary et al., 2013; Riley et al., 2014).

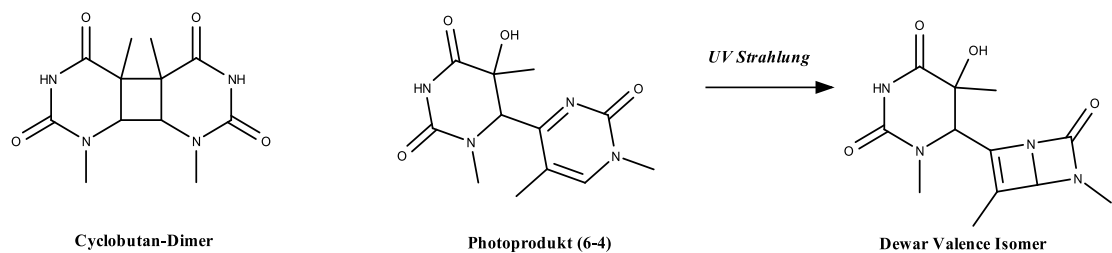
## 2.4 UV-Mutagenese und DNA-Reparatur

Die für die Arbeit selbst hergestellten Entwicklungsmutanten entstanden durch UV-Bestrahlung des Wildtyps von *Zygorhynchus moelleri*. Deshalb wird im Folgenden kurz auf den Mechanismus der Mutagenese und Reparaturmechanismen eingegangen.

DNA-Modifikationen kann man sowohl mit physikalischen, wie ionisierende Strahlung, als auch mit chemische Noxen, wie N-Methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidin, erreichen.

Wird ein Organismus UV-Strahlen ausgesetzt, kommt es häufig zu Punktmutationen im Genom. Generell unterscheidet man in drei Subtypen von UV-Strahlung, die sich über die Wellenlängen definieren: UVA (315- 400 nm), UVB (280- 315 nm) und UVC (100- 280 nm). Dabei ist die UVC und UVB-Strahlung für die Herstellung von Mutanten effektiver, da das Absorptionsmaximum der DNA von Licht bei 260 nm liegt. DNA-

Schäden können entweder direkt durch Absorption (UVB und UVC) oder indirekt durch reaktive Sauerstoffradikale erfolgen (UVA) (Cadet et al., 2005). Die am häufigsten durch UV-Strahlung induzierte Photoreaktion ist die Verknüpfung von zwei Thymidin-Basen zu Cyclobutan-Pyrimidindimere (CPDs) über einen Cyclobutanring. Außerdem können Pyrimidindimere Pyrimidin (6–4) Pyrimidon-Photoprodukte (6-4PPs) entstehen. Setzt man die 6-4 PP Licht einer Wellenlänge von 320 nm (UVB) aus, können sie zu „Dewar Valence Isomeren“ (DewPPs) isomerisieren (Abb. 12).



**Abb. 12 Struktur der durch UVB- und UVC-Strahlung ausgelösten Pyrimidindimere.** (modifiziert nach Cadet et al., 2005)

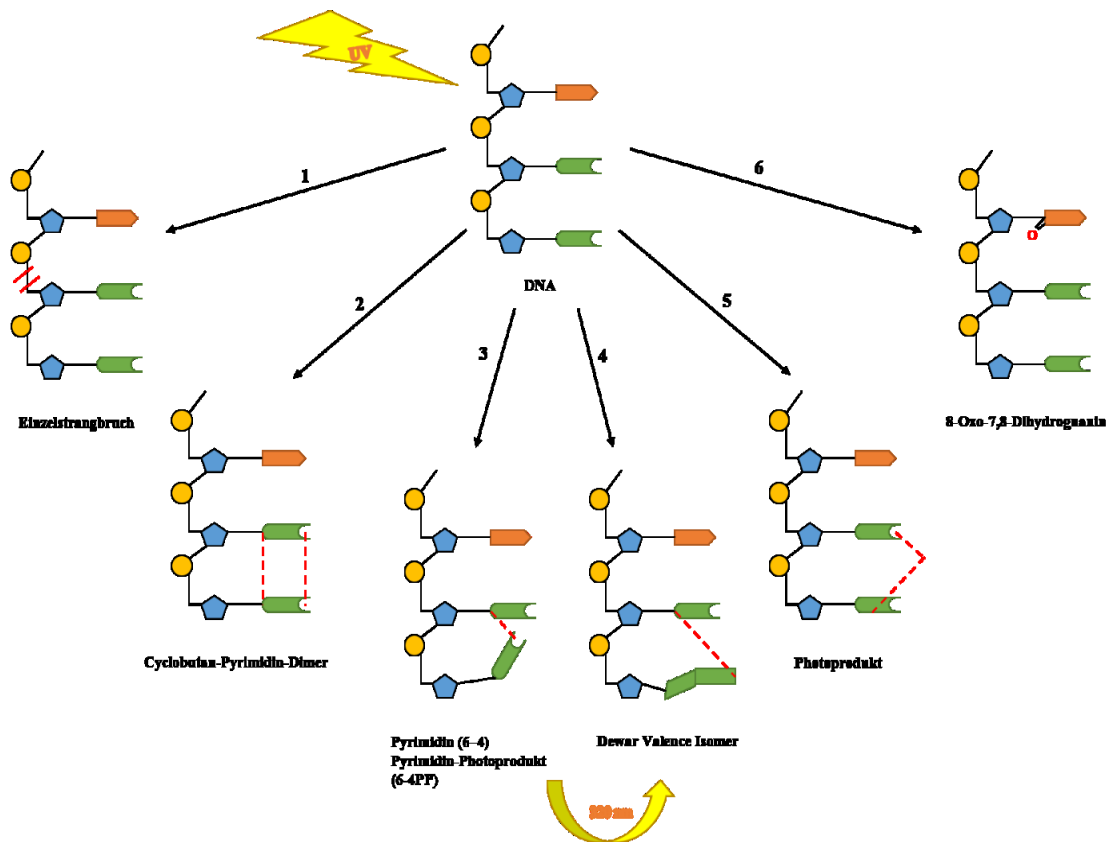
Daneben wurden auch andere Photoreaktionen beobachtet, welche in geringerem Umfang auftreten (Abb. 13; Yagura et al., 2011):

- Photohydration von Cytosin
- Addukt-Bildung zwischen 2 benachbarten Adenin-Basen oder Adenin und Thymin
- Oxidation von Guanin zu 8-Oxo-7, 8-Dihydroguanin durch reaktive Sauerstoffradikale

Die aufgeführten Schäden in der DNA-Struktur führen dazu, dass die DNA nicht mehr oder doch sehr schlecht transkribiert wird, da mit der DNA wechselwirkende Proteine, hier etwa die Polymerasen, die entstandenen Dimere nicht passieren können. Replikation und Transkription des betroffenen Abschnitts werden gestört.

Da UV-Strahlung hauptsächlich als Sonnenlicht auf die Organismen trifft, ist die Reparatur von DNA-Schäden von essentieller Bedeutung. Bei Prokaryonten wie *Escherichia coli* wird nach Schädigung die SOS-Reparatur eingeleitet (Schlacher und Goodman, 2007). Diese wird insbesondere aktiviert, wenn Einzelstrangbrüche in der DNA entstanden sind. Das SOS-Regulon wird durch die Proteine RecA und LexA reguliert. Das aktivierte RecA spaltet den Repressor LexA. Mit der Spaltung von LexA

kommt es zur Transkription der für SOS spezifischen Gene, die der Repressor im intakten Zustand verhindern würde.



**Abb. 13: Durch UV-Strahlung hervorgerufene DNA-Schäden.** 1- Einzelstrangbrüche. 2- Bildung von Cyclobutan-Pyrimidin-Dimeren. 3- Pyrimidin (6-4) Pyrimidin-Photoprodukte (6-4PP). 4- Isomerisierung von 6-4PP durch Bestrahlung mit 320 nm zu Dewar Valence Isomeren. 5- Photoprodukt-Bildung. 6- Oxidation von Guanin zu 8-Oxo-7,8-Dihydroguanin. (modifiziert nach Yagura et al., 2011).

Die Eukaryonten wurden mehrere Reparaturmechanismen nach DNA-Schädigungen untersucht.

Die meisten Eukaryonten besitzen die Fähigkeit, die DNA-Schäden mit Exzisions-Reparatur zur reparieren (Sancar, 1996). Diese Reparatur ist durch folgende Schritte gekennzeichnet. Zuerst werden die geschädigten Basen mit Nucleasen aus dem betreffenden DNA-Strang geschnitten. Die so entstandene Lücke wird über eine Polymerase mit der korrekten Base geschlossen und die Bruchstellen werden mit einer Ligase wieder kovalent verbunden. Die Exzisions-Reparatur wird je nach Schaden in „base excision repair“ (BER) und „nucleotide excision repair“ (NER) unterteilt. Wird BER eingeleitet, ist nur eine Base defekt, welche von DNA-Glykolyasen erkannt wird. Die Glykolyasen sind für die Basen spezifisch und entfernen die betroffene Base durch Hydrolyse.

Pyrimidin-Dimere können mit NER entfernt werden. Dabei wird ein 10-20 Nukleotide großes Fragment um das beschädigte Stück durch die Spaltung des Phosphorsäurediester-Rückgrates entfernt. Wie bei BER werden die fehlenden Nukleotide durch eine Polymerase ersetzt und über eine Ligase mit der restlichen DNA verknüpft.

Doppelstrangbrüche werden vorwiegend durch reaktive Sauerstoffradikale und ionisierende Strahlung induziert. Da kein unbeschädigter Strang als Matrize verwendet werden kann, ist die Reparatur von Doppelstrangbrüchen komplizierter. Sie können über „homologous recombination“ (HR) oder „non-homologous end joining“ (NHEJ) repariert werden (Friedberg, 2003).

Die meisten Zellen sind diploid und verfügen über zwei genetisch identische Chromosomensätze. Ein Proteinkomplex realisiert den DNA-Schaden und repariert diesen durch Verwendung des intakten Chromosoms als Matrize (HR). Bei NHEJ werden die Doppelstrangbrüche einfach mittels DNA-Ligase wieder miteinander verbunden. Bei diesem Prozess können aber einige Nukleotide verloren gehen, was zu bleibenden Veränderungen in der DNA führt.

UV-Mutagenese ist, im Vergleich zur Mutation mit chemischen Mitteln wie N-Methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidin, oder Röntgenstrahlung das für die Herstellung eines Mutanten-Satzes mit diversen verschiedenen, hauptsächlich sexuellen, Defekten (Schulz und Wetzels, 2016), das am besten geeignete Mittel, da die anderen Mutagenese-Methoden zum einen junge, wachsende Zellen benötigen, zum anderen oft aufgrund von Synchronisation des Zellzyklus dieselben Mutationen hervorrufen.

UV-Strahlen rufen wie oben beschrieben sehr verschiedene DNA-Schäden hervor, was wiederum zur Aktivierung der DNA-Reparatur führt. Bei diesen Reparaturmechanismen treten außerordentlich häufig Fehler auf, sodass die mutierten DNA-Abschnitte nicht in ihrer ursprünglichen Struktur wiederhergestellt werden. Für den hier studierten Zygomyceten *Zygorhynchus moelleri* gibt es naturgemäß keine Daten. Der Vergleich mit anderen Organismen macht jedoch deutlich, mit welchen Mutationshäufigkeiten man rechnen kann. Allein die Fehlerrate während der SOS-Reparatur der replizierten Basenpaare mit der DNA-Polymerase V beträgt in *Escherichia coli* bis zu  $10^{-1}$  (Janion, 2008).

### 3 Ziele

Durch UV-Mutagenese des homothallischen Zygomyceten *Zygorhynchus moelleri* sollen Mutanten erzeugt werden, die in irgendeiner Arte und Weise einen Defekt in der sexuellen Interaktion aufweisen. Durch morphologische und molekularbiologische Analysen und den Vergleich zu der Morphogenese des korrespondierenden Wildtyps sollen mögliche Ursachen, der für die Mutanten charakteristischen Phänotypen, untersucht werden. Der Wildtyp *Zygorhynchus moelleri* wurde zudem auf mögliche Sex-induzierende und -reprimierende chemische Faktoren getestet.

Zusätzlich sollten die *sex*-Loci aller sequenzierten Mucor-verwandten Zygomyceten annotiert werden, um einen Vergleich und einen Überblick über die Syntanie der Gene und daraus resultierende Evolution des *mating type* Locus innerhalb homo- und heterothallischer Spezies zu erhalten.

## 4 Material und Methoden

### 4.1 Materialien

#### 4.1.1 Verwendete Stämme, Stammhaltung und Kultivierung

Für die Arbeit wurde hauptsächlich der Wildtyp des homothallischen Zygomyceten *Zygorhynchus moelleri* und dessen selbst generierten UV-Mutanten verwendet (Tabelle 2). Die Herstellung der UV-Mutanten wird in Abschnitt (4.2.3) beschrieben.

**Tabelle 1: Herkunft der verwendeten Pilzstämme und Organismen.**

Stamm	Kreuzungstyp	Stamm-Nr.	Herkunft
<i>Zygorhynchus moelleri</i>	homothallisch	FSU 531	P <sup>a</sup> 67
<i>Mucor mucedo</i>	(–)	FSU 620	CBS 109.16
<i>Mucor mucedo</i>	(+)	FSU 621	CBS 144.24
<i>Blakeslea trispora</i>	(–)	FSU 331	CBS 130.59
<i>Blakeslea trispora</i>	(+)	FSU 332	CBS 131.59
<i>Parasitella parasitica</i>	(–)	FSU 388	ATCC 11077
<i>Parasitella parasitica</i>	(+)	FSU 387	CBS 412.66

<sup>a</sup>P: Phycomycetes, Fungal Reference Center, Jena, Germany.

Für Kreuzungstests wurden *Blakeslea trispora* (+) CBS 130.49, (–) CBS 131.49 und *Mucor mucedo* (+) CBS 144.24 und (–) CBS 109.16 verwendet. Zur weiteren Untersuchung der UV-Mutanten wurden diese in Gegenwart des biotrophen Fusionsparasiten *Parasitella parasitica* (+) CBS 412.66 und (–) ATCC 11077 kultiviert (Tabelle 1). Beide Kreuzungstypen von *Blakeslea trispora* wurden für die Extraktion der Trisporoide und Trisporinsäure als Kontrolle verwendet. Die Kreuzungstypen von *Mucor mucedo* wurden zusätzlich für den Test der biologischen Aktivität (Zygophoreninduktionstest) der von *Blakeslea trispora*, dem Wildtyp von *Zygorhynchus moelleri* und dessen UV-Mutanten extrahierten Trisporoide verwendet.

**Tabelle 2: CBS- Nummern der UV-Mutanten und des zugehörigen Wildtyps von *Zygorhynchus moelleri*.**

Stamm/ Mutante	CBS-Nummer
<i>Zygorhynchus moelleri</i> FSU531 (Wildtyp)	CBS 140413
<i>Zygorhynchus moelleri</i> UV44	CBS 140568
<i>Zygorhynchus moelleri</i> UV48	CBS 140417
<i>Zygorhynchus moelleri</i> UV112	CBS 140587
<i>Zygorhynchus moelleri</i> UV127	CBS 140591
<i>Zygorhynchus moelleri</i> UV139	CBS 140414
<i>Zygorhynchus moelleri</i> UV542	CBS 140415
<i>Zygorhynchus moelleri</i> UV554	CBS 140416

Alle aufgeführten Medien wurden nach dem Ansetzen für 20 min bei 121 °C autoklaviert (Tabelle 3). Dabei wurden die Salze getrennt von Zucker und Agar sterilisiert, um deren Ausfallen zu verhindern. Salze wurden in 200 ml und Zucker und Agar in 800 ml ad. H<sub>2</sub>O gelöst und nach dem Autoklavieren zusammengegeben.

**Tabelle 3: Verwendete Nährmedien**

Medium	Bestandteile	Konzentration	
<i>supplementiertes Minimalmedium (SUP)</i> (J. Wöstemeyer, 1985)			
Glucose-Monohydrat		10	g/l
Ammoniumchlorid (NH <sub>4</sub> Cl)		1	g/l
Kaliumdihydrogenphosphat(KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> )		4	g/l
di-Kaliumhydrogenphosphat (K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> )		0,9	g/l
Magnesiumsulfat Heptahydrat (MgSO <sub>4</sub> × 7H <sub>2</sub> O)		0,25	g/l
Hefeextrakt		5	g/l
Agar-Agar		12	g/l
<i>Zygomyceten-Minimalmedium (MM)</i>			



Glucose-Monohydrat	10	g/l
Ammoniumchlorid (NH <sub>4</sub> Cl)	1	g/l
Kaliumdihydrogenphosphat(KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> )	4	g/l
di-Kaliumhydrogenphosphat (K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> )	0,9	g/l
Magnesiumsulfat Heptahydrat (MgSO <sub>4</sub> × 7H <sub>2</sub> O)	0,25	g/l
Agar-Agar	12	g/l
<b><i>Induktionsmedium (IM) (modifiziert nach van den Ende 1968)</i></b>		
Maltose	20	g/l
Kaliumnitrat (KNO <sub>3</sub> )	10	g/l
Kaliumdihydrogenphosphat(KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> )	5	g/l
Magnesiumsulfat Heptahydrat (MgSO <sub>4</sub> × 7H <sub>2</sub> O)	2,5	g/l
Hefeextrakt	1	g/l
Agar-Agar	12	g/l
<b><i>Malzextraktmedium (MEX)</i></b>		
Malzextrakt	30	g/l
Agar-Agar	12	g/l
<b><i>Maltosemedium</i></b>		
Maltose	20	g/l
Ammonium-dihydrogen-phosphat ((NH <sub>4</sub> )H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> )	0,1	g/l

Zur Erhaltung aller verwendeten Stämme wurden Einzelsporisolate dieser in Schrägagar-Reagenzröhrchen und 100 ml- Erlenmeyerkolben mit Malzextrakt- oder SUP-Medium kultiviert. Die Kulturen wurden bei 20 °C gelagert. Zusätzlich wurden Sporen in 20 % (v/v) Glycerin bei -80 °C gelagert.

Zur Herstellung von mit Aminosäuren supplementierten Minimalmedien wurde dem Minimalmedium nach dem Autoklavieren 0,22 mM steril filtrierte Aminosäuren zugesetzt. Diese Medien wurden verwendet um die UV-Mutanten auf Auxotrophie zu testen.

Für die Beobachtungen sexueller Interaktionen wurde generell Induktionsmedium verwendet. Für Fotoaufnahmen wurden Aussparungen in das Medium geschnitten und dieses anschließend mit einer Cellophan-Folie belegt, damit der Pilz nicht in das Medium wächst und weniger Bodenmyzel ausbildet.

Für die Extraktion von Trisporoiden wurden die einzelnen Stämme von *Zygorhynchus moelleri* und *Blakeslea trispora* (in Kreuzkultur) als Flüssigkultur zunächst in SUP-Medium ohne Agar kultiviert. Später wurden die Kulturen in Maltose-Medium überführt.

### 4.1.2 Verwendete Chemikalien und Geräte

Tabelle 4: Verwendete Chemikalien

Chemikalie	Firma
1 kb Leiter	Fermentas
2- Amino-2-(hydroxymethyl)-1,3-propandiol (TRIS)	Roth
2-Propanol	Roth
4', 6-Diamidino-2-Phenylindol (DAPI)	Fluka
Agar- Agar	Roth
Agarose	FMC
Ammoniumchlorid	Roth
Ammoniumdihydrogenphosphat	VEB Laborchemie Apolda
Borsäure	Merck
Bromphenolblau	Roth
Caesiumchlorid (CsCl), 99,9 %	Biomol
Calcoflour	Serva
Chlortetracyclin-Hydrochlorid	Sigma
Cystamin	Sigma
Cystathionin	Sigma
Diaminobutanon	Sigma
Di-Kaliumhydrogenphosphat	Merck
Di-Natriumhydrogenphosphat	Roth
DL-Ethionin	Sigma
dNTPs	Fermentas
Essigsäure (96%)	Merck
Essigsäureethylester	VEB Laborchemie Apolda
Ethanol (100%)	Sigma
Ethidiumbromid	Serva
Ethylendiamintetraacetat (EDTA)	Roth

## Material und Methoden

Fluorescein Isothiocyanat (FITC)	Sigma
FITC-Cadaverin	Sigma
Glucose-D(+)-monohydrat	Merck
Glycerin	Roth
Hefeextrakt	Roth
Homoserin	Sigma
Kaliumchlorid	Roth
Kaliumdihydrogenphosphat	Roth
Cystamin	Sigma
L-Cystein	Sigma
L-Methionin	Sigma
Magnesiumsulfat-heptahydrat	Fluka
Maltose	Merck
Malzextrakt	Teltomalz GmbH
Molybdätophosphorsäure	Merck
Natriumacetat	Roth
Natriumchlorid	Roth
Natriumdihydrogenphosphat	Roth
Natriumdodecylsulfat (SDS)	Serva
Natriumhydroxid	Roth
Natriumsulfat	Roth
NonidentP40	Sigma
Putrescin	Roth
S-Adenosylmethionin	Sigma
Salzsäure (32%)	Pharmacia Biotech
Spermidin	Roth
Spermin	Roth
tert. Butylmethylether	Roth

Trichlormethan	Roth
Triton X 100	Roth
Xylencyanol	Biorad

**Tabelle 5: Verwendete Geräte**

Gerät	Firma
Abzug	Köttermann
Autoklav Typ 400Eh und 400E	Varioklav Dampfsterilisator
Eismaschine	NordCap
Folienschweißgerät	Severin
Gelkammer für Gel-Elektrophorese	Bio-Rad
Kleinmischgerät Vortex-Genie 2	Scientific Industries
Kühlschränke:	
4°C-Kühl- und -20°C-Tiefkühlschrank	Liebherr
-80°C Tiefkühlschrank	Miele
Magnetischer Heiz-Rührer	Ikamag Ret (IKA-Labortechnik)
Netzgerät für Gel-Elektrophorese	Consort E722
pH-Meter	Mikroprozessor (WTW) pH 523
Photometer	Jasco V-530 UV/VIS Spectrometer
Quarzküvetten 10,0 mm Schichtdicke	Hellma Präzisionsküvetten
Stereomikroskop	Leica WILD M3C, Carl-Zeiss Jena GSZ
Videoprintanlage	INTAS
Wasserbad	Köttermann (GFL)
Werkbank BHA 48 Faster	BIOHAZARD J.H. Schrader (Göttingen)
Zentrifugen:	
Tischzentrifuge	Heraeus Sephatech Biofuge 13

Kühlzentrifuge	Sorvall RMC 14
Ultrazentrifuge	Sorval Ultra Pro Haerus
Rotoren:	SS 34 TV865B

## 4.2 Methoden

### 4.2.1 DAPI-Färbung der Sporangiosporen

*Zygorhynchus moelleri* Wildtyp wurden eine Woche auf SUP Medium bei 20 °C kultiviert. Die Sporangiosporen wurden mit 8 ml sterilem Aqua dest. abgeschwemmt und zehnfach verdünnt. 0,5 ml der verdünnten Sporensuspension wurden 1 min bei 13.000 rpm zentrifugiert. Die Sporen wurden in 20 µl 40 mM Natriumphosphatpuffer pH 7,0, 50 mM Sorbitol und 2 µg/ ml 4',6-Diamidin-2-phenylindol (DAPI) für 30 min im Dunkeln bei Raumtemperatur inkubiert. Die Sporensuspension wurde nach der Färbung einmal mit 100 µl 40 mM Natriumphosphatpuffer pH 7,0, 50 mM Sorbitol gewaschen und die Sporen anschließend in 20 µl 40 mM Natriumphosphatpuffer pH 7,0, 50 mM Sorbitol aufgenommen. Die Fluoreszenz wurde mit Zeiss Axiophot Mikroskop (Filter 365±20 nm/397 nm) dokumentiert.

### 4.2.2 Calcoflour-Färbung der Sporangien

Calcoflour bindet Zellwandbestandteile von Pilzen (Hayashibe und Katohda, 1973; Monheit et al., 1986). Die UV-Mutante UV127 von *Zygorhynchus moelleri* wurde auf IM Medium bei 20 °C kultiviert. Das Luftmyzel wurde präpariert und 2 min in einer 10 µg/ml Calcofluorlösung inkubiert. Überschüssiges Calcoflour wurde mit 0,1 % Triton X 100 entfernt. Die Fluoreszenz wurde mit Zeiss Axiophot Mikroskop (Filter 365±20 nm/397 nm) dokumentiert.

### 4.2.3 UV-Mutagenese

Die für diese Arbeit charakterisierten Mutanten von *Zygorhynchus moelleri* wurden mit UV-Mutagenese (254 nm; UVC) der Sporangiosporen des Wildtypes generiert (UV-Lampe: Schütt Labortechnik GmbH Göttingen, Type: 3.260 002, Nr. 91008, Volt: 230 AC +/- 5%, Hz: 50, A: 0,181, W: 15, IP: 21). Dazu wurden 1.000 keimfähige Mitosporen

von *Zygorhynchus moelleri* in 10 ml 0,1 % Triton-X100 in einer Petrischale ohne Deckel ( $\varnothing = 9$  cm) 1 min unter langsamen Schütteln bestrahlt. Die Überlebensrate betrug dabei ca. 1–2 % zu erhalten. Die Distanz der Petrischale zur UV-Lampe betrug ca. 4 cm.

Nach der Bestrahlung wurden die Sporen auf SUP-Medium bei 20 °C im Dunkeln inkubiert, um Lichteinflüsse und damit Photoreparatur der DNA über Photolyasen zu vermeiden. Zur Selektion auf Veränderungen im sexuellen Verhalten im Vergleich zum Wildtyp wurden alle keimenden Myzelien auf IM-Medium transferiert.

Für weitere Untersuchungen wurden nur jene Mutanten verwendet, deren Einzelsporisolate eine veränderte sexuelle Physiologie und einen über Generationen hinweg stabilen Phänotyp zeigten. Alle Mutanten wurden mit „UV“ und einer Nummer gekennzeichnet.

Sektoren-bildende Phänotypen und instabile Mutanten wurden nicht weiter untersucht, da die Einzelsporisolate der Sektoren-Bildner immer zum Wildtyp-Phänotyp revertierten.

#### **4.2.4 Charakterisierung der Mutanten**

##### **4.2.4.1 Wachstumsverhalten auf verschiedenen Medien**

Petrischalen mit SUP, MM, IM und MEX wurden mittig mit einem  $5 \times 5$  mm großen Agarblock von Wildtyp und den UV-Mutanten beimpft. Im Fall von UV127 (einer Methionin-auxotrophen Mutante) wurde MM und IM mit Methionin-Zusatz (0,22 mM Endkonzentration) verwendet. Die Kulturen wurden für drei Tage bei 20 °C im Dunkeln kultiviert. Dabei wurden jeden Tag die Myzel-Radien gemessen. Die morphologischen Charakteristika der UV-Mutanten wurden mit dem Mikroskop betrachtet (Leica wild M3C Kombi Stereomikroskop und Zeiss Axiophot Mikroskop).

##### **4.2.4.2 Sporenanzahl und Keimrate**

Der Wildtyp *Zygorhynchus. moelleri* und die UV-Mutanten wurden sieben Tage bei 20 °C auf SUP- Medium inkubiert, um keimfähige Sporangiosporen zu erhalten. Zur Untersuchung der Lichtabhängigkeit der Sporenbildung wurden die Stämme 7 oder 14 Tage bei 20 °C im Dunkeln (dunkle Box in dunklem Raum) und bei alternierendem Licht auf IM-Medium kultiviert.

Die Sporen wurden zweimal mit 10 ml d. H<sub>2</sub>O abgewaschen. Mittels Thoma-Zählkammer wurde die Sporenkonzentration bestimmt und auf eine Fläche von 1 cm<sup>2</sup> kalkuliert (Fläche der verwendeten Petrischale: 63,6 cm<sup>2</sup>). Zur Bestimmung der Keimrate wurde aus der Sporensuspension eine dekadische Verdünnungsreihe bis 10<sup>-6</sup> hergestellt. Davon wurden je 0,2 ml auf IM-Medium ausplattiert und nach der Keimung (nach ca. ein Tag) ausgezählt. Für statistisch relevante Werte wurde eine Dreifachbestimmung durchgeführt.

#### **4.2.4.3 Kreuzungsverhalten**

Das Kreuzungsverhalten der Mutanten wurde durch Kultivierung auf IM-Medium bei 20 °C im Dunkeln untersucht. Die Mutanten wurden mit dem Wildtyp von *Zygorhynchus moelleri*, beiden Kreuzungstypen von *Blakeslea trispora*, *Mucor mucedo* und *Parasitella parasitica* und untereinander gekreuzt.

#### **4.2.5 Extraktion und Analyse von Trisporoiden**

Von allen UV-Mutanten und dem Wildtyp von *Zygorhynchus moelleri* wurden Trisporoide extrahiert. Zusätzlich wurden die Trisporoide von *Blakeslea trispora* Kreuzkulturen extrahiert.

Die Extraktionsmethode beruht auf der Methode von van den Ende, 1968 und wurde etwas abgewandelt (Schimek et al., 2003).

Die Extraktion von Trisporoiden wurde zuerst von van den Ende 1968 beschrieben. Hierfür wurden entweder 10<sup>6</sup> Sporen oder 4–5 1 cm<sup>2</sup> große Myzel-Stückchen einer 4-Wochen alten Kultur in 100 ml flüssiges SUP-Medium überführt und unter natürlichen Lichtbedingungen 3–4 Tage bei 20 °C und 120 rpm geschüttelt (im Falle von UV530: 10 Tage). Danach wurde das Myzel mit Hilfe eines Teesiebes geerntet und mit 100 ml Maltose-Medium gewaschen. Hierbei wurden die Myzelien beider komplementären Kreuzungstypen von *Blakeslea trispora* vereinigt. Das Myzel wurde in einen neuen, mit 100 ml Maltose-Medium gefüllten 500 ml- Glaskolben überführt und fünf Tage bei 20 °C im Dunkeln auf einem Schüttler kultiviert, da Trisporoide lichtempfindlich sind.

Alle nun folgenden Schritte wurden aufgrund der Lichtempfindlichkeit der Trisporoide im Dunkeln durchgeführt.



Nach fünf Tagen wurde das Myzel über einen Büchner-Trichter abfiltriert. 10 ml des Kulturmediums wurden steril filtriert und für weitere Experimente bei -20 °C gelagert und die Myzel-Trockenmasse bestimmt. Zunächst wurde das Kulturmedium mit 10 M NaOH auf pH 8,0 eingestellt, dann wurde 0,5 V Trichlormethan:2-Propanol (100:5) zugegeben. Das Gemisch wurde in einem Scheidetrichter kräftig geschüttelt und nach der Phasentrennung wurde die organische Phase aufgefangen (pH 8-Extrakt). Für die Extraktion der sauren Bestandteile der Trisporoide wurde das restliche Kulturmedium mit 32 % HCl auf pH 2,0 eingestellt und erneut mit dem Extraktionsgemisch in einem Scheidetrichter versetzt. Die untere, organische Phase wurde erneut aufgefangen (pH 2-Extrakt). Die pH 8- und pH 2-Extrakte wurden über Nacht mit wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet, um das restliche Wasser aus den Lösungen zu entfernen. Nach Entfernen des Natriumsulfates durch Filtration wurden die Extrakte mit einem Vakuum-Rotationsverdampfer bei 55 °C und 340 mbar bis zur Trocknung rotiert. Die trockenen Rückstände wurden in 100 % Ethanol p.A. aufgenommen und in dunklen Flaschen bei -20 °C gelagert.

Mittels photometrischer Messung kann man die Trisporoidkonzentration berechnen. Das Absorptionsspektrum zwischen 200 und 400 nm wurde mit einem V-560 UV/VIS Spektrophotometer (Jasco, Tokyo) gemessen. Als Grundlinie diente das Spektrum von 100 %igem Ethanol. Trisporosäure und Methyltrisporat haben ihr Absorptionsmaximum bei 325 nm. Das Absorptionsmaximum von 4-Dihydromethyltrisporat liegt dagegen bei 282 nm.

Die Konzentration beider Extrakte kann man mittels der spezifischen Extinktionskoeffizienten  $\epsilon_\lambda$  für 4-Dihydromethyltrisporat  $\epsilon_{282\text{nm}} = 547$  und für Trisporosäure und Methyltrisporat  $\epsilon_{324\text{nm}} = 572$  berechnen (Nieuwenhuis und van den Ende, 1975).

$$c\left(\frac{\text{mg}}{\text{ml}}\right) = \frac{\left(\text{Absorption } \lambda \cdot 10 \frac{\text{mg}}{\text{ml}}\right)}{\epsilon \lambda}$$

40 µg Trisporoide (20 µg Trisporoide von *Blakeslea trispora*) wurden über eine Dünnschichtchromatographie auf Kieselgel 60 F254 Platten (20 × 20 cm, Merck) aufgetrennt. Als Laufmittel diente Trichlormethan: Essigsäureethylester: tert. Butylmethylether: Essigsäure (5: 3: 1,5: 0,5). Vor der Dünnschichtchromatographie wurden 100 ml Laufmittel in einen Tank gefüllt und dort ca. 1 h inkubiert.

Währenddessen wurden die Trisporoide auf die Kieselgel-Platte aufgetragen und 30 min getrocknet. Das Kieselgel wurde 1 h im Tank entwickelt und anschließend nach Markierung der Laufmittelfront unter dem Abzug 20 min getrocknet. Die Banden wurden unter UV-Licht bei 312 nm sichtbar gemacht. Um reduzierende Substanzen wie Steroide und Lipide sichtbar zu machen wurden die Kieselgel-Platten nach der Dokumentation mit Molybdätdiphosphorsäure besprüht. Nach Erhitzen mit einem Föhn auf bis zu 120 °C konnten dunkle Banden detektiert werden.

Um die biologische Aktivität der extrahierten Trisporoide zu testen, wurden 40 µg Trisporoide (im Fall von *Blakeslea trispora* 20 µg) auf ein Filterpapierplättchen gegeben und dieses getrocknet. Danach wurde es an die Myzelfront eines 4 Tage kultivierten Kreuzungstypes von *Mucor mucedo* oder den einzelnen Mutanten gelegt. Nach 16–24 h wurden die Platten unter einem Stereomikroskop mikroskopiert, um vorhandene Zygophoren zu sehen (modifiziert nach Plempel, 1965; Schimek et al., 2003).

#### **4.2.6 Extraktion von Carotin**

Da während der morphologischen Untersuchungen der UV-Mutanten auffiel, dass einige der Mutanten (UV139 und UV542) nach bestimmter Zeit und zu bestimmten Kultivierungsbedingungen gelblich pigmentiert sind, wurde dieses Pigment genauer untersucht und extrahiert.

Je 1000 Sporen des Wildtypes und den UV-Mutanten wurden auf IM-Medium mit Cellophan für eine Woche bei 20 °C entweder im Dunkeln (dunkle Box in dunklem Raum) oder unter natürlichem Tag-Nacht-Rhythmus kultiviert. Die Extraktion von Carotin erfolgte nach der von Roukas und Mantzouridou, 2001 beschriebenen und modifizierten Methode.

Das Myzel wurde von der Cellophan-Folie genommen und mit Flüssigstickstoff zu einem feinen Pulver zerrieben. Davon wurden 1 g zu 100 ml 100 % Ethanol p.a. gegeben und über Nacht bei 30 °C im Wasserbad geschüttelt. Die Zellbestandteile wurden mittels Zentrifugation (10 min bei  $5000 \times g_{\max}$ ) und Filtration über Whatman Filter entfernt. Das Ethanol wurde bei 175 mbar und 60 °C in einem Rotationsverdampfer evaporiert. Anschließend wurde das extrahierte Carotin in 1 ml 100 % Ethanol p.a. aufgenommen und bei -20 °C aufbewahrt.

Zur Analyse des so extrahierten Pigmentes wurde das Spektrum mit UV/VIS Spektroskopie zwischen 350 und 500 nm aufgenommen.

Die Carotin-Konzentration wurde nach dem Lambert-Beerschen-Gesetz berechnet Für  $\beta$ -Carotin in Ethanol beträgt  $\epsilon_{450\text{nm}} = 135800 \text{ l mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  (Craft and Soares, 1992).

$$c(M) = \frac{E(452 \text{ nm}) \cdot \text{Verdünnungsfaktor}}{\epsilon \cdot \text{Schichtdicke (1 cm)}}$$

Für die Berechnung der Konzentration in mg/ml wurde die Molekulare Masse von  $\beta$ -Carotin (536,89 g/mol) verwendet.

#### **4.2.7 Wirkung der Polyamine**

Um die Wirkung von Polyaminen auf die sexuelle Entwicklung von *Zygorhynchus moelleri* zu testen, wurde zunächst der Wildtyp drei Tage auf IM bei 20 °C unter normalen Tagesbedingungen kultiviert. Anschließend wurden im Lochplattentest verschiedene Substanzen zugegeben und die Kulturen weitere drei Tage inkubiert. Die Wirkung der getesteten Substanzen wurden photographisch dokumentiert.

#### **4.2.8 Isolation von DNA**

Für DNA Isolation wurden  $10^6$  Sporen des Wildtyps und der UV-Mutanten von *Zygorhynchus moelleri* in SUP-Flüssigmedium 3–4 Tage bei 20 °C und 120 rpm kultiviert. Das Medium wurde über einen Büchner-Trichter gefiltert und das Myzel zweimal mit 4 °C kaltem sterilem d. H<sub>2</sub>O gewaschen. Das Myzel wurde in Flüssig-Stickstoff zu feinem Pulver zerrieben und bis zur Weiterverarbeitung bei -80 °C gelagert.

##### **4.2.8.1 Isolation von genomischer DNA nach Einax and Voigt, 2003**

Eine Spatelspitze Myzelpulver wurde in 300  $\mu\text{l}$  200 mM TrisCl pH 8,0, 250 mM NaCl, 25 mM EDTA PH 8,0, 0,5 % (w/v) SDS gegeben und 3 min auf einem Vortexer gemischt. Dann wurde das Gemisch 10 min bei 65 °C im Wasserbad inkubiert und erneut 3 min gemischt. Nach Zugabe von 150  $\mu\text{l}$  3 M Natriumacetat pH 5,2 wurde die Probe invertiert und 10 min bei -20 °C inkubiert. Die Reaktionsgefäße wurden 15 min bei 10400 x g<sub>max</sub> (Heraeus Biofuge13, Sepatech 3747 Rotor) zentrifugiert. 300  $\mu\text{l}$  des Überstandes wurden in ein neues Eppendorf-Gefäß transferiert und 1 h in 1 Volumen 100 %

Isopropanol bei Raumtemperatur gefällt. Die DNA wurde erneut zentrifugiert (15 min bei  $10400 \times g_{\max}$ ; Heraeus Biofuge13, Sepatech 3747 Rotor) und das Pellet zweimal mit eiskalten 70 % Isopropanol gewaschen. Das Pellet wurde im Vakuum getrocknet und in 40 µl sterilem Wasser aufgenommen. Die Konzentrationsbestimmung erfolgte aufgrund der enthaltenen RNA und Restproteine über Agarose-Gelelektrophorese.

#### **4.2.8.2 Isolation von genomischer DNA über einen Cäsiumchlorid-Gradienten**

Die DNA- Isolation wurde wie in Schilde et al., 2001 durchgeführt. Das Myzelpulver wurde in 150 mM EDTA pH 8,0, 50 mM TrisCl pH 8,0, 20 mM NaCl, 1 % (w/v) SDS, 100 µg/ml Proteinkinase K gegeben und 30 min bei 55 °C inkubiert. Das Lysat wurde auf 1 M NaCl eingestellt und 30 min auf Eis inkubiert. Nach Zentrifugation (10 min, 4 °C,  $5858 \times g_{\max}$ , SLA-1500) wurden 10 % (w/v) PEG<sub>6000</sub> zugegeben und 1 h auf Eis zur Fällung inkubiert. Nach erneuter Zentrifugation (20 min, 4 °C,  $11750 \times g_{\max}$ , SLA-1500) und das entstandene Pellet 30 min an der Luft getrocknet. Das Pellet wurde in 5 mM EDTA pH 8,0, 25 mM TrisCl pH 8,0, 10 mM NaCl, 1 % (v/v) Triton X-100 über Nacht bei 4 °C gelöst. Dem gelösten Pellet wurden 1 g/ml CsCl zugegeben und ebenfalls gelöst. Der Lösung wurden 20 µg/ml Ethidiumbromid zugegeben und der CsCl-Gradient wurde 24 h bei  $18316 \times g_{\max}$  und 20 °C zentrifugiert (Sorvall UltraPro 80, Rotor: TV865B). Die DNA-Bande wurde mit einer sterilen Kanüle und Spritze abgezogen und das Ethidiumbromid mit 1,5 V getrocknetem Isopropanol ausgeschüttelt. Zum Schluss wurde die DNA bei dreimaligem Pufferwechsel ca. 36 h gegen 10 mM TrisCl pH 8,0 und 0,1 mM EDTA pH 8,0 dialysiert.

Über die Messung der Extinktion bei 260 nm konnte die Konzentration der DNA ermittelt werden:

$$c_{DNA} \left( \frac{\mu g}{ml} \right) = E_{260nm} \cdot 50 \frac{\mu g}{ml} \cdot \text{Verdünnungsfaktor}$$

Die Extinktionsmessung bei 280 nm und 260 nm ergibt eine Aussage über den Reinheitsgrad der isolierten DNA. Dabei sollte der Quotient aus  $E_{260nm} / E_{280nm}$  zwischen 1,8 und 2,0 liegen (Sambrook und Russel, 2000).

## 4.2.9 Agarose-Gelelektrophorese

Größere DNA-Fragmente wurden in 1 %-Agarosegelen in 1x TAE (40 mM Tris, 20 mM Natriumacetat, 1 mM EDTA, pH 7,8) aufgetrennt. Für kleinere Fragmente wurden 1,5 – 2 % Agarosegele in 1x TBE (89 mM Tris, 89 mM Borsäure, 2 mM EDTA, pH 8,0) verwendet. Vor Beladen des Geles wurden alle DNA-Proben mit 20 % (v/v) Ladepuffer (50 % (w/v) Glycerol, 0,25 (w/v) Xylencyanol FF, 0,25 % (w/v) Bromphenolblau) versetzt. Das Gel wurde mit ca. 3 V/cm laufen gelassen. Zur Färbung der DNA diente anschließend 2 µg/ml Ethidiumbromid. Das Gel wurde in dieser Lösung für 20 min inkubiert und die DNA unter UV-Licht bei 312 nm sichtbar gemacht. (Sambrook und Russel, 2000).

## 4.2.10 Polymerase-Ketten-Reaktion (PCR)

Die für die Arbeit verwendeten Primer sind in Tabelle 6 aufgelistet.

**Tabelle 6: Sequenzen der für diese Arbeit verwendeten Primer. Die Restriktionsstellen sind unterstrichen.**

Bezeichnung (Orientierung)	Sequenz
MetA_for	5'-GCGGATCCGACATCATTTCTCTCGCATGG-3'
MetA_rev	5'-CGCAAGCTTGCATCATACCACAAGGATAC-3'
MecC_for	5'-CCCGCGGATCCAAGACTGGTATGATCATGG-3'
MecC_rev	5'-CGCCGCAAGCTTGCTTGATGACGTGTTCCA-3'
MecA_for	5'-GCCCCGCGAATTCGTTATTGCTAACCGTATG-3'
MecA_rev	5'-GCGGATCCTCACGAATCAGACGACGAGACA-3'
MecB_for	5'-CCCCGCGAATTCGTCGACAACACCTTCATG-3'
MecB_rev	5'-CCGCGGATCCCTGACAGCACCGTGGGTCAT-3'
Ahc_for	5'-CCCCGCGGATCCGAAATGCCCGGTTTGATG-3'
Ahc_rev	5'-GCAAGCTTCATGACATCGGTGGCACGCTTG-3'
MetE_for	5'-GCGAATTCGCGAGCGTCAAGTCCTGATGGC-3'
MetE_rev	5'-CCCGCGGATCCGTGTCATGACCAAACATGG-3'
sexP_Zm_for2	5'-CGGGATCCAATCAATACCACCGAGGCTTGT-3'
sexP_Zm_rev2	5'-CGTCTAGATGACAAGGTCAACTCGAGCAAT-3'

PCR-Ansatz (Gesamtvolumen 25 µl) für die Polymerasekettenreaktion (nach Mullis et al., 1986):

1×	Reaktionspuffer (NH <sub>4</sub> für Spezifität: 75 mM TrisCl pH 8,8, 20 mM (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , 0,01 % (v/v) Tween 20; KCl: 10 mM TrisCl pH 8,8, 50 mM KCl, 0,08 % (v/v) Nonidet P40)
0,2 mM	dNTPs (dATP, dGTP, dCTP, dTTP)
2 – 4 mM	MgCl <sub>2</sub>
10 pmol	Primer vorwärts (for)
10 pmol	Primer rückwärts (rev)
0,5-1 U	Taq-Polymerase
20 ng	DNA als Template

PCR-Programm:

5 min	94 °C	Denaturierung	
45 s	50-55 °C (Temperatur je nach Schmelzpunkt der Primer)	Annealing	} 30-35×
1-2 min	72 °C	Elongation	
30 s	94 °C	Denaturierung	
45 s	55 °C (Temperatur je nach Schmelzpunkt der Primer)	Annealing	
5 min	72 °C	Elongation	

### 4.3 Bioinformatische Analysen

Für die Identifikation der Sex Loci aller bis Dezember 2016 in ihrer Sequenz vorhandenen Mucorales (Tabelle 7) wurden die Datenbanken JGI MycoCosm (Grigoriev et al., 2014), NCBI ([www.ncbi.nlm.nih.gov/](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/)) und UniProt (The UniProt Consortium, 2015) verwendet.

Für generelle Sequenzvergleiche wurde das Programm BioEdit (Hall, 1999) benutzt.

Bei nicht-annotierten Genen wurden die offene Leserahmen (ORFs) mit Artemis (Rutherford et al., 2000) identifiziert und mittels BLASTP (Altschul et al., 1990) und InterProScan (Jones et al., 2014) annotiert.

Die multiplen Sequenzalignments der HMG Domänen-Proteine SexM und SexP und des Elongationsfaktors 1 $\alpha$  wurden mit Clustal Omega (Sievers et al., 2011) erzeugt. Der phylogenetische Baum der HMG Domänen-Proteinsequenzen wurde mit FigTree 1.4.2 ([tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/](http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/)) aus den von Clustal Omega ausgegebenen Daten im Newick-Format erstellt.

Alle Domänen wurden mit InterPro (Jones et al., 2014) identifiziert.

**Tabelle 7: Alle für die Analyse der sex-Loci verwendeten heterothallischen und homothallischen Mucorales-Stämme.** Spezies, welche mit Stern markiert sind entstammen Joint Genome Mycocosm. Alle restlichen Stämme entstammen der NCBI Genbank.

Spezies	Stammnummer	KT	Quelle
<i>Absidia glauca</i> (Absgl)	CBS 101.48 RVII-324 met-	-	Ellenberger, Sabrina (Projekt ID: PRJEB13349)
<i>Absidia padenii</i> syn. <i>Chlamydoabsidia padenii</i> * (Abspa)	NRR 2977	-	Chang, Ying (Projekt ID: 1099015)
<i>Absidia repens</i> * (Absre)	NRR 1336	+	Stajich, Jason (Projekt ID: 1089083)
<i>Backusella circina</i> * (Bacci)	FSU 941	+	Gryganskyi, Andrii (Projekt ID: 1015495)
<i>Blakeslea trispora</i> (Blatri)	VKM F-921	-	Camino et al., 2015 (Genbank HG939558.1)
	VKM F-986	+	Camino et al., 2015 (Genbank HG939557.1)
<i>Choanephora cucurbitarium</i> (Chocu)	KUS-F28377	+	Min B., Park H., Park J.-H., Shin H.-D. und Choi I.-G. (Projekt ID: PRJNA314369)
<i>Gongronella butleri</i> * (Gonbut)	CBS 227.36	+	Chang, Ying (Projekt ID: 1098955)
<i>Hesseltinella vesiculosa</i> * (Hesve)	NRR 3301	-	James, Timothy (Projekt ID: 1026982)
<i>Lichtheimia corymbifera</i> * (Licco)	JMRC FSU 6982	-	Schwartz et al., 2014
<i>Lichtheimia hyalospora</i> * (Lichy)	FSU 10163	-	Gryganskyi, Andrii (Projekt ID: 1015499)
<i>Lichtheimia ramosa</i> (Licra)	Taxon: 688394	-	Linde et al., 2014 (Projekt ID: PRJEB6289)
<i>Mucor ambiguus</i> (Mucam)	NBRC 6742	+	Takeda, I., Yamane, N., Morita, T., Tamano, K., Machida, M., Baker, S. und Koike, H. (Projekt ID: PRJDB3023)
<i>Mucor circinelloides</i> (Mucci)	CBS 277.49*	-	Corrochano et al., 2016 (Projekt ID: 403122)
	NRRL 3631	+	S. C. Lee et al., 2008 (Genbank: FJ009107.1)
<i>Mucor cordense</i> syn. <i>Kirkomyces cordense</i> * (Kircor)	RSA 1222	-	Spatafora, Joseph (Projekt ID: 1099019)
<i>Mucor mucedo</i> (Mumu)	CBS 144.24	+	Wetzel et al., 2012 (Genbank: JN587499.1)
	CBS 109.16	-	Wetzel et al., 2012 (Genbank: JN587498.1)



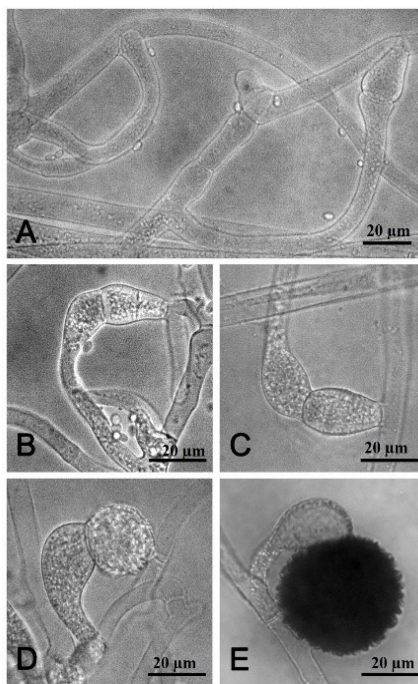
<i>Mycotypha africana*</i> (Mycafr)	NRRL 2978	+/-	Spatafora, Joseph (Projekt ID: 1085227)
<i>Parasitella parasitica</i> (Parpa)	CBS 412.66 NGI-315 ade-	+	Ellenberger, Sabrina (Projekt ID: PRJEB7124)
	NRRL 2501* (Parpa1)	-	Stajich, Jason (Projekt ID: 1076124)
	ATCC 11077 (Parpa2)	-	Burmester, Anke
<i>Phascolomyces articulatus*</i> (Phaar)	RSA 2281	+	Chang, Ying (Projekt ID: 1098949)
<i>Phycomyces blakesleeana</i> (Phybl)	NRRL 1555*	-	Corrochano et al., 2016 (Projekt ID: 401760)
	UBCj 21	+	Idnurm et al., 2008 (Genbank: EU009462.1)
<i>Rhizopus delemar</i> (Rhide)	NRRL 1551	-	Gryganskyi et al., 2010 (Genbank: HQ450313.1)
	RA 88-990	+	Gryganskyi et al., 2010
<i>Rhizopus microsporus*</i> (Rhimi)	ATCC 11559	+	Lastovetsky et al., 2016 (Projekt ID: 1034955)
<i>Rhizopus oryzae</i> (Rhior)	CBS 346.36	+	Gryganskyi et al., 2010 (Genbank: HQ450315.1)
	CBS 110.17	-	Gryganskyi et al., 2010
<i>Syncephalastrum racemosum*</i> (Synrac)	NRRL 2496	+	Stajich, Jason (Projekt ID: 1089085)
<i>Syzygites megalocarpus</i> (Syzme)	ATCC 11807	+/-	Idnurm, 2011 (Genbank: JN112239.1)
<i>Thamnidium elegans*</i>	NRRL 2467	+	Spatafora, Joseph (Projekt ID: 1085231)
<i>Umbelopsis rammaniana*</i>	AG	N/A	Gryganskyi, Andrii (Projekt ID: 1006137)
<i>Zychaea mexicana*</i> (Zycmex)	RSA 1403	-	Chang, Ying (Projekt ID: 1098951)
<i>Zygorhynchus heterogamus*</i> (Zyghet)	NRRL 1489	+/-	Spatafora, Joseph (Projekt ID: 1085225)
<i>Zygorhynchus moelleri</i> (Zygmo)	FSU 531, CBS 140413	+/-	Schulz, Emilia

## 5 Ergebnisse und Auswertung

### 5.1 Mutagenese und Charakterisierung

#### 5.1.1 Morphologie des Wildtyps von *Zygorhynchus moelleri* FSU 531

*Zygorhynchus moelleri* gehört zu den wenigen homothallischen Zygomyceten. Der Pilz besitzt Hyphen mit (+)- und (–)-Charakter im selben Myzel, die miteinander fusionieren und letztlich die Zygosporangien bilden. Die sexuelle Differenzierung von *Zygorhynchus moelleri* ist in Abb. 14 dargestellt und soll überdies für dieses Isolat detailliert beschrieben werden, um später die Mutanten-Phänotypen deutlich abgrenzen zu können.



**Abb. 14: Sexuelle Entwicklung des Wildtyps von *Zygorhynchus moelleri*.** Zu Beginn werden Zygomorphen gebildet (A), die zu Progametangien anschwellen. Durch Septierung differenzieren sich Gametangien und Suspensoren (B). Die Gametangien fusionieren zur Zygote (C), die sich erst zum jungen Zygosporangium entwickelt (D), und später zur fertigen Zygospore differenziert (E). (Abbildung aus Schulz und Wetzel, 2016)

Zu Beginn der sexuellen Interaktion zweigt ein Seitenast von der Haupthyphe ab und wächst auf die Hyphenspitze zu. Beide Spitzen schwellen zu Progametangien an. Nach Einzug von Septen bilden sich Gametangien, die miteinander fusionieren und eine Zygospore ausbilden. Diese wird später dunkel pigmentiert und besitzt eine stachelige Oberfläche. Auf Induktionsmedium (IM) wächst der Wildtyp als starkes Substratmyzel

und bildet nur sehr kurze wenige Lufthyphen aus. Hier bildet *Zygorhynchus moelleri* nach zwei Tagen Kultivierung tausende schwarzbraun pigmentierte Zygosporen kurz über dem Substratmyzel und im Luftmyzel.

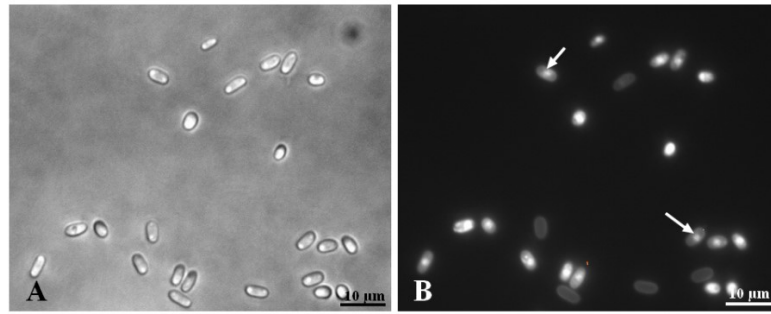
Zusätzlich zu den normalen Zygosporen bildet das Wildtyp-Myzel auch atypische Strukturen. Bei diesen bildet ein Suspensor alleine eine Zygospore, deren Zellwand eine Zygosporen-ähnliche Struktur aufweist. Zudem wurden immer einige wenige nicht pigmentierte Zygosporen im Myzel gefunden.

Wie alle Zygomyceten verbreitet sich *Zygorhynchus moelleri* hauptsächlich über die Bildung von Mitosporen in Sporangien und zusätzlich über schnelles vegetatives Myzelwachstum. Die Sporenkeimung Sporangiosporen des Wildtyps dauert ca. 8–12 h bei Kultivierung auf festem supplementierten Minimalmedium (SUP). Die ermittelte Keimrate beträgt nahezu 100 % bei frisch geernteten Sporen von sieben Tage altem Myzel. Bei ca. 20 °C und Kultivierung auf SUP beträgt die Wachstumsgeschwindigkeit des Myzels ca. 1 cm pro Tag.

Auf supplementiertem Minimalmedium und Malzextrakt bildet der Wildtyp zunächst ein sehr dichtes, viel verzweigtes Substratmyzel. Dann wachsen viele Hyphen an den Hyphenspitzen nach oben. Einige Lufthyphen dienen als Sporangienträger und bilden an ihre Spitze Sporangien aus. Die Sporangien können in Wirteln angeordnet oder einzelständig sein und besitzen wie alle *Mucor*-verwandten Zygomyceten eine Columella. Die in den Sporangien gebildeten Sporen sind oval-förmig und fast immer einkernig.

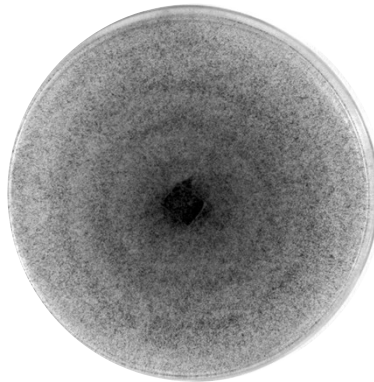
### **5.1.2 UV-Mutagenese**

Für die UV-Mutagenese wurden frisch geerntete Sporangiosporen des Wildtyps von *Zygorhynchus moelleri* verwendet. DAPI-Färbungen zeigten, dass die Sporangiosporen zu 93,2 % (bei 309 analysierten Sporen) einkernig sind (Abb. 15). Vergleichbare Ergebnisse lieferte auch schon die mikroskopische Studie von Morau (Morau, 1913 zitiert aus Cutter, 1942). Die hier verwendeten Konditionen zur UV-Mutagenese führten zu einer Sporen-Überlebensrate von 1–2 %.



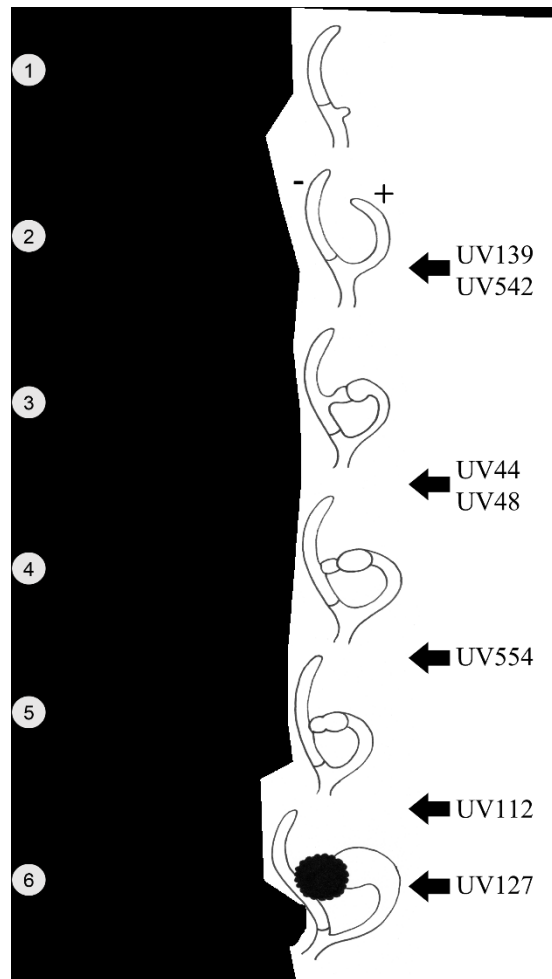
**Abb. 15:** Fluoreszenzmikroskopie DAPI-gefärbter Mitosporen von *Zygorhynchus moelleri* WT (B) und korrespondierendes Lichtbild (A). (Abbildung aus Schulz und Wetzel, 2016)

Der Wildtyp von *Zygorhynchus moelleri* bildet auf Induktionsmedium zur sexuellen Induktion (IM) zahlreiche, mit dem bloßen Auge sichtbare, dunkel pigmentierte Zygosporien (Abb. 16). Aus diesem Grund wurde dieses Medium zum Screening auf sexuell defiziente Mutanten nach der UV-Mutagenese verwendet. Dabei wurden nur Mutanten ausgewählt, deren Einzelsporisolate zudem einen über mehrere Generationen stabilen Phänotyp zeigten. Sektorenbildner, die ebenfalls als Ergebnis der UV-Bestrahlung entstanden, wurden nicht weiter untersucht. Einzelsporisolate von Sektorenbildnern revertierten in jedem Fall zum Phänotyp des Wildtyps und bildeten wieder Zygosporien.



**Abb. 16:** Koloniemorphologie des Wildtypes von *Zygorhynchus moelleri*. Siebentägige Kultivierung bei 20°C im Dunkeln auf IM.

Die Rate an stabilen phänotypisch veränderten UV-Mutanten betrug ca. 1–2 %. Wiederholte UV-Mutagenese-Experimente von Wildtyp-Mitosporen führten zu sieben stabilen Mutanten mit Veränderungen in der sexuellen Morphogenese zeigten.

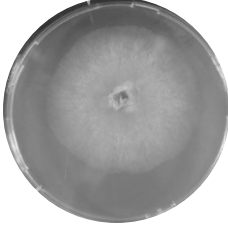
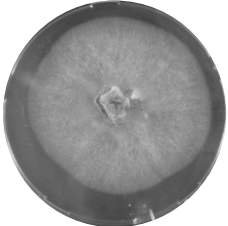

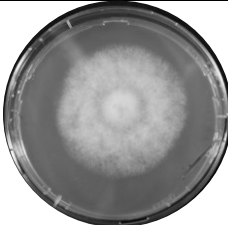



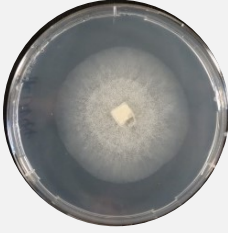
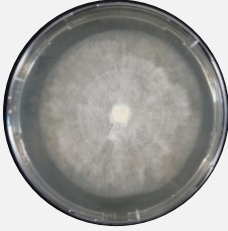

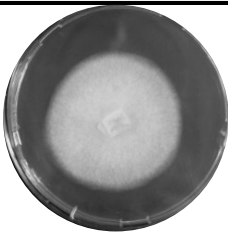
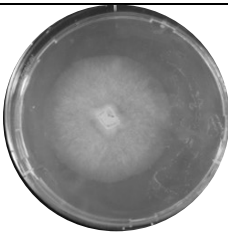
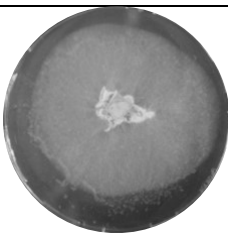
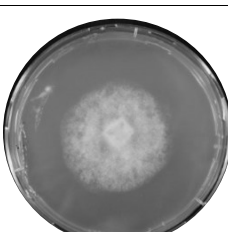
**Abb. 17:** Allgemeines Schema der sexuellen Entwicklung des homothallischen Zygomyceten *Zygorhynchus moelleri*. Dargestellt sind die sechs gut voneinander abgrenzenden Stadien von der Zygophorenbildung zum differenzierten Zygosporangium und die Stadien, in denen die präsentierten UV Mutanten gehemmt sind (modifiziert nach Schulz und Wetzel, 2016).

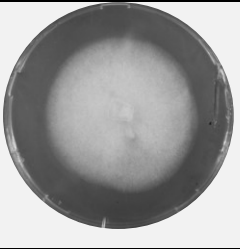
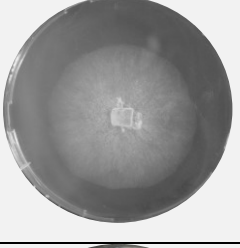
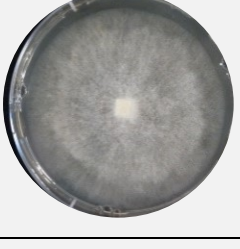
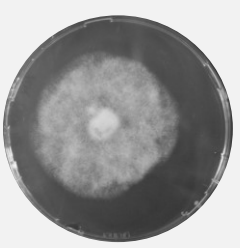
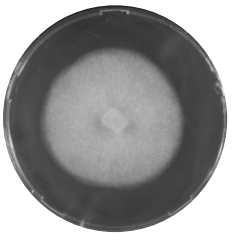
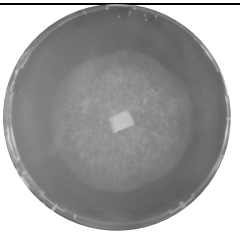
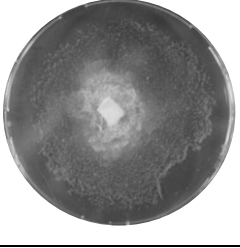
### 5.1.3 UV-Mutanten – morphologische Charakterisierung

Der Vergleich des Wachstums der Mutanten mit dem Wildtyp auf den verschiedenen Nährmedien wurde nach drei Tagen ausgewertet (Tabelle 8).

**Tabelle 8: Wachstum des Wildtypes von *Zygorhynchus moelleri* FSU 531 und den UV-Mutanten auf verschiedenen Fest-Medien (supplementiertes Minimalmedium, SUP; Induktionsmedium, IM; Malzextraktmedium, MEX und Minimalmedium, MM) nach drei Tagen.**

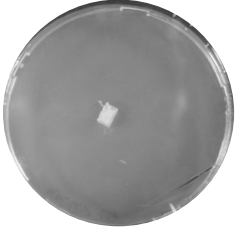
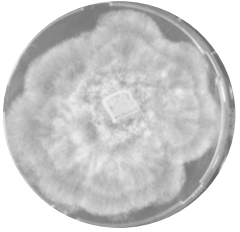

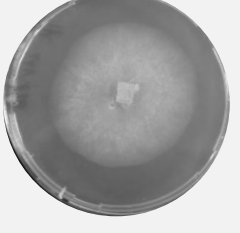

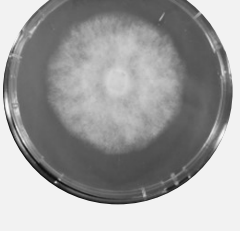
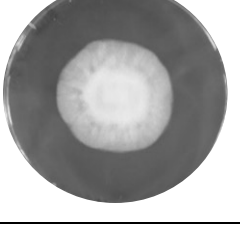
Stamm/ UV-Mutante	Medium	Beschreibung	Myzel-Radius (mm)	Abbildung
<b>FSU 531 WT</b>	SUP	Dichtes Luftmyzel mit einigen undifferenzierten Sporangien und Zygosporen	25	
	IM	Ausgeprägtes Substratmyzel, nur wenig kurze Lufthyphen, Bildung von sexuellen Vorstufen erkennbar	25	
	MEX	Dichtes Luft- und Substratmyzel mit einigen undifferenzierten Sporangien und Zygosporen	27	
	MM	Dichtes gekräuselter Luftmyzel mit wenigen undifferenzierten Sporangien	25	
<b>UV44</b>	SUP	Dichtes Luftmyzel mit einigen undifferenzierten Sporangien	27	

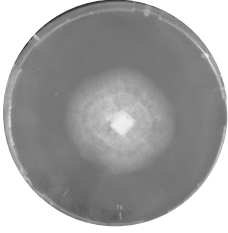
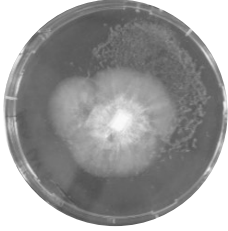
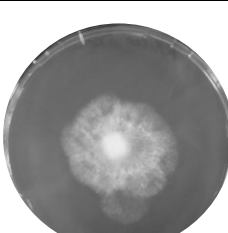

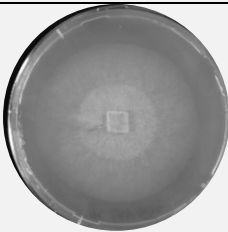
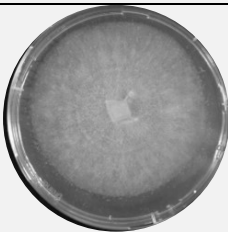
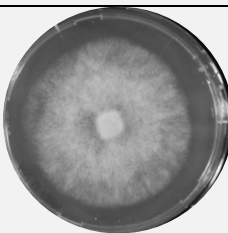
	IM	Gut erkennbares Substratmyzel, dünnes Luftmyzel	22	
	MEX	Ausgeprägtes Substratmyzel mit einigen undifferenzierten Sporangien	29	
	MM	Dichtes Luftmyzel mit undifferenzierten Sporangien (ähnliche Morphologie wie auf SUP)	25	
UV48	SUP	Dichtes Luftmyzel mit einigen undifferenzierten Sporangien	27	
	IM	Dünnes Substratmyzel, kein Luftmyzel	27	
	MEX	Dichtes Substratmyzel mit einigen Lufthyphen	29	
	MM	Luftmyzel mittig gut ausgeprägt	26	

UV112	SUP	Dichtes Luft- und Substratmyzel	30	
	IM	Leicht bräunliches Bodenmyzel	27	
	MEX	Dichtes Bodenmyzel mit einigen Lufthyphen	34	
	MM	Weniger ausgeprägtes Luftmyzel (sonst Erscheinung wie auf SUP)	31	
UV127	SUP	Dichtes in der Mitte bräunlich gefärbtes Luft- und Substratmyzel mit undifferenzierten Sporangien	31	
	IM	Sehr schwach ausgeprägtes Substratmyzel, ohne Zygosporen und Sporangien	27	
	MEX	Luftmyzel in der Mitte ausgeprägt, ohne Sporangien	34	



# Ergebnisse und Auswertung

	MM	Einige wenige Substrathyphen, kaum Wachstum -> auxotroph	-	
	MM <sub>met</sub>	Relativ dichtes Substratmyzel, hell bräunliche Färbung, undifferenzierten Sporangien erkennbar	30	
UV139	SUP	Dichtes Luftmyzel, Braunfärbung in der Mitte deutlich erkennbar	27	
	IM	Ausgeprägtes Substratmyzel	24	
	MEX	Dichtes Substratmyzel mit erkennbarem Luftmyzel	28	
	MM	Dünnes Luftmyzel mit sichtbarem Bodenmyzel	23	
UV542	SUP	Dichtes Luftmyzel	17	

	IM	Dichtes Bodenmyzel, leicht gelblich verfärbt	16	
	MEX	Dünnes Boden- und Luftmyzel	18	
	MM	Dünnes Luftmyzel, Bodenmyzel darunter gut zu erkennen	18	
UV554	SUP	Dichtes Boden- und Luftmyzel	25	
	IM	Bodenmyzel mit wenigen Lufthyphen	25	
	MEX	Dichtes Bodenmyzel mit erkennbarem Luftmyzel	29	
	MM	Dichtes Bodenmyzel mit dünnem Luftmyzel	28	

Der Wildtyp wächst auf allen verwendeten Medien, allerdings sind makro- und mikroskopische Unterschiede in der Morphologie erkennbar. Während der Pilz auf SUP als dichtes Luftmyzel wächst und nach sieben Tagen Kultivierungszeit zahlreiche Mitosporangien mit keimfähigen Mitosporen ausbildet, wächst er auf IM hauptsächlich als Bodenmyzel. Hier werden kurze Lufthyphen ausgebildet, welche sich nach der Verzweigung in einen Seitenast und Fusion mit dem Hauptast nach 2–4 Tagen zu zahlreichen Zygosporen entwickeln. Das Wachstum der Pilze auf MM ist im Vergleich zum Vollmedium generell langsamer. Hier werden nahezu keine Sporangien und nur wenige Zygosporen gebildet. Das Myzel wächst als gewundenes Luftmyzel.

Alle Mutanten mit Ausnahme von UV127 wachsen auf MEX, IM, SUP und MM mit der gleichen Geschwindigkeit wie der Wildtyp (Abb. 18). UV127 bewächst alle Medien mit Ausnahme von MM wie der Wildtyp (Abb. 18). Tests mit verschiedenen Aminosäuren, welche dem MM zugesetzt wurden, ergaben, dass es sich bei der UV127 um eine Methionin-auxotrophe Mutante handelt. Auf MM mit Methioninsupplementierung wächst diese Mutante ebenfalls mit der gleichen Geschwindigkeit wie der WT. In Abb. 18 sind die gemessenen Myzel-Radien als Endpunktmessung nach drei Tagen Kultivierung auf den verschiedenen Medien dargestellt. Diese Werte spiegeln nicht die Wachstumskinetik der Pilze wieder, die das tatsächliche Wachstum der Kulturen pro Tag widerspiegelt (Trinci, 1969).

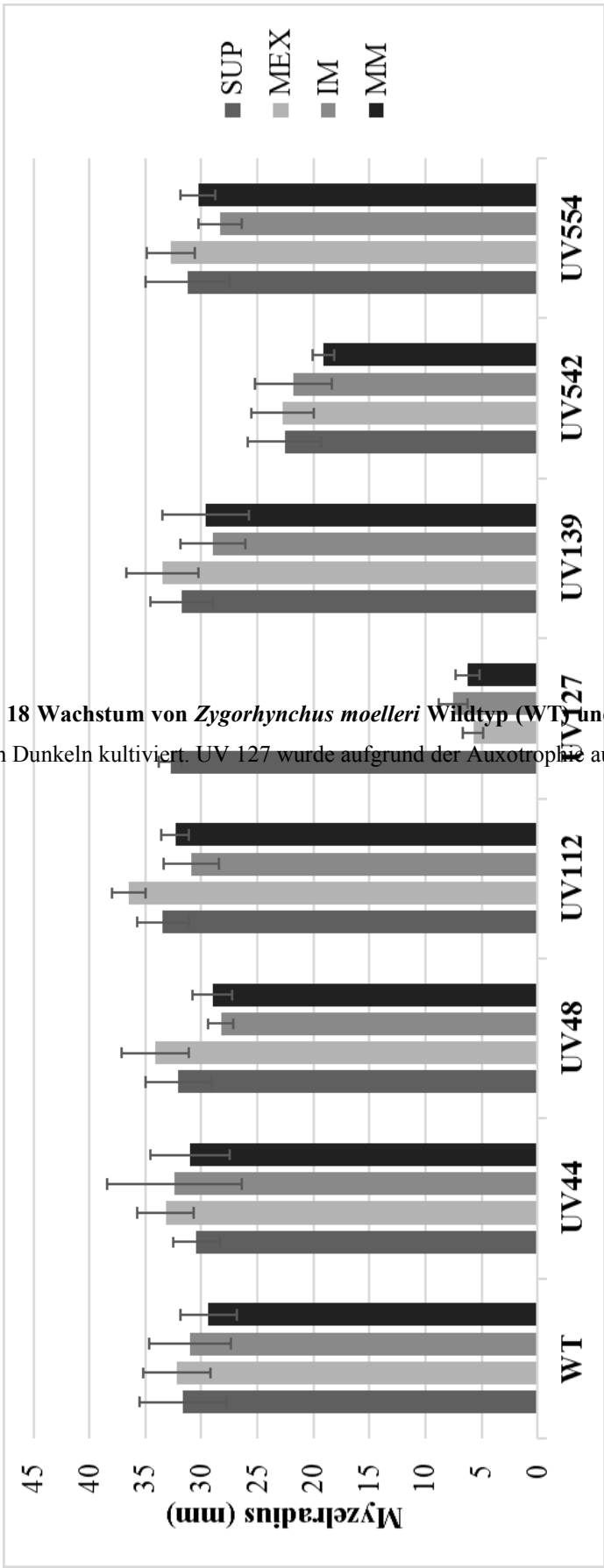


Abb. 18 Wachstum von *Zygorhynchus moelleri* Wildtyp (WT) und den UV-Mutanten auf verschiedene Medien bei 27°C im Dunkeln kultiviert. UV 127 wurde aufgrund der Auxotrophie auf MM<sub>Met</sub> kultiviert

Vergleichend mit der starken Zygosporienbildung des Wildtyps auf IM kann man die Mutanten in drei Kategorien unterteilen:

Keine Zygosporien oder nur Vorstufen    UV44, UV48, UV542, UV139

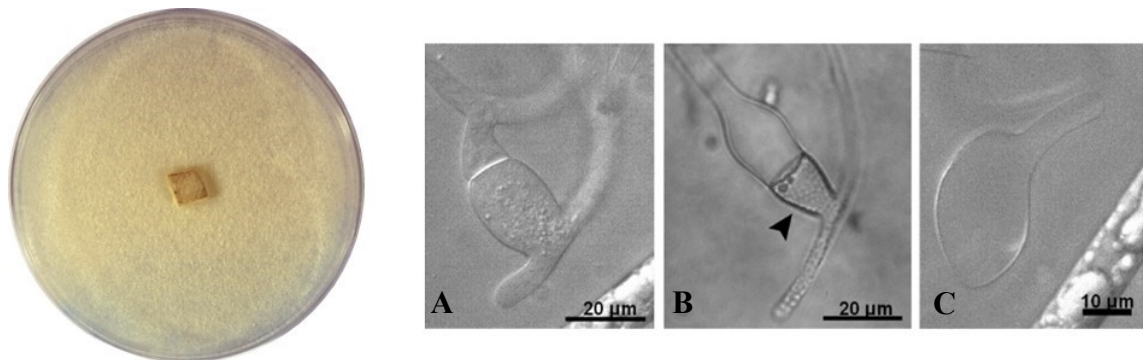
Wenige Zygosporien    UV112, UV554

Auxotrophe    UV127

Die makro- und mikroskopischen Charakteristika aller Mutanten werden im Folgenden beschrieben.

#### 5.1.3.1 UV44

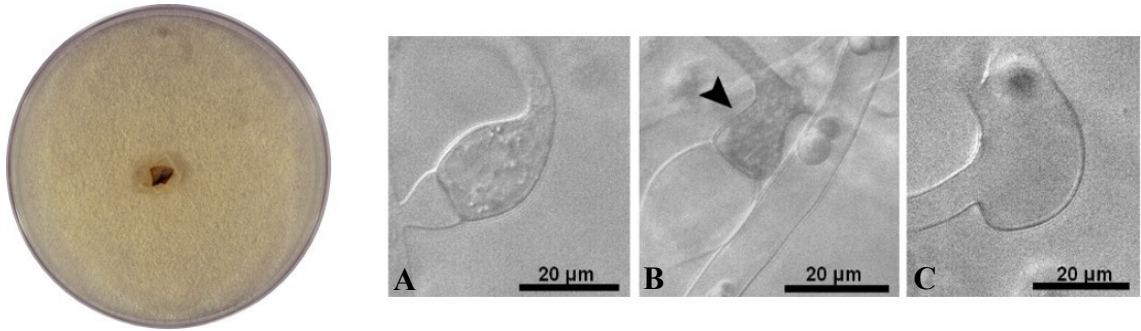
Auf IM bildet diese Mutante nur Progametangien und Gametangien aus (Abb. 19). Mikroskopisch konnten nur einige wenige Zygosporien beobachtet werden.



**Abb. 19: Kolonie- und Hyphenmorphologie von UV-Mutante UV44.** Siebentägige Kultivierung bei 20°C im Dunkeln auf IM. Die Mutante kann keine Gametangienwände bilden und bleibt im Progametangienstadium stecken (A). Oft entwickelt ein Progametangium eine warzenartige Oberfläche (B). Manchmal schwellen die Hyphen abnormal an (C). (modifiziert nach Schulz und Wetzel, 2016)

#### 5.1.3.2 UV48

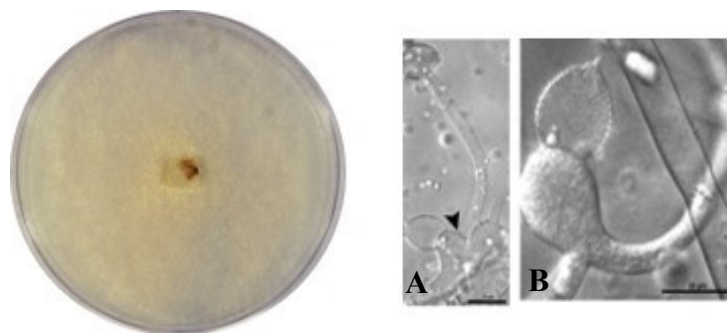
Diese Mutante entstammt von UV-Mutagenese Experimenten von Dr. Jana Wetzel. Hier waren auf IM ebenso nur Progametangien und Gametangien unter dem Mikroskop zu erkennen (Abb. 20). Das Myzel ist nach einigen Tagen gräulich verfärbt. Die Koloniemorphologie entspricht dem makroskopischen Erscheinungsbild von UV44.



**Abb. 20: Kolonie- und Hyphenmorphologie von UV-Mutante UV48.** Siebentägige Kultivierung bei 20°C im Dunkeln auf IM. Wie UV44 bleibt UV48 im Progametangienstadium stecken und entwickelt manchmal an einem Progametangium eine warzenartige Oberfläche (A und B). Auch hier schwellen die Hyphen abnormal an (C). (modifiziert nach Schulz und Wetzel, 2016)

### 5.1.3.3 UV112

Diese Mutante bildet hauptsächlich Progametangien und Gametangien aus, die nur in seltenen Fällen zu Zygosporien fusionieren. Die Zygosporien von UV112 besitzen zwar die typische warzenartige Zellwandornamentierung, sind jedoch häufig nicht braun pigmentiert, und die äußere Wand des Zygosporangiums scheint zu fehlen. Bei der Bildung sexueller Strukturen dieser Mutante fällt auf, dass oft beide sexuell differenzierten Hyphen aus den Suspensoren nach der Zygosporienbildung weiterwachsen (Abb. 21). Manchmal bildet eine der beiden Hyphen aus dem Makrosuspensor ein Mitosporangium aus. Beim Wildtyp wächst nur eine Hyphe gerichtet weiter und bildet manchmal eine zweite sexuelle Struktur aus. Dort wurde dieses Phänomen der Sporangienbildung aus der sexuellen Struktur heraus nicht beobachtet.

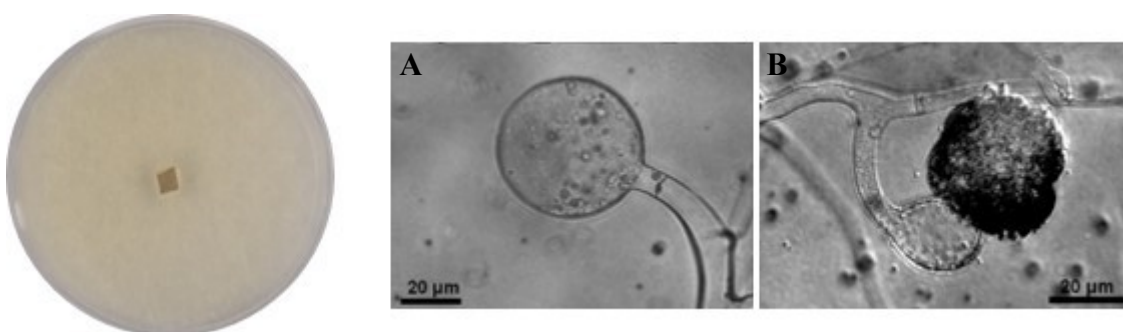


**Abb. 21: Kolonie- und Hyphenmorphologie der UV-Mutante UV112.** Siebentägige Kultivierung bei 20 °C im Dunkeln auf IM. Diese Mutante bildet junge Zygosporangien aus, die eine durchsichtige Wand haben (B). In einigen Fällen wächst aus den Makrosuspensor eine Hyphe, die oft ein asexuelles Sporangium trägt (A). (modifiziert nach Schulz und Wetzel, 2016)

#### 5.1.3.4 UV127

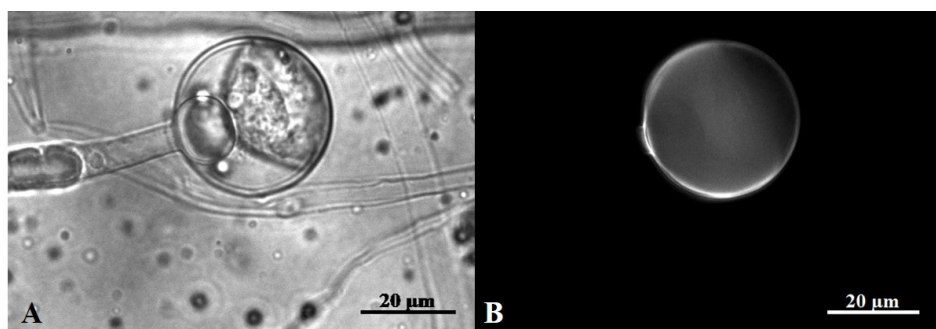
Diese Mutante wurde als sexuell defekte Mutante isoliert, zeigte jedoch in der weiteren Charakterisierung zusätzlich eine Methionin-Auxotrophie.

Auf SUP Medium verhält sich UV127 nahezu wie der Wildtyp und bildet nach zwei bis vier Tagen Kultivierung ebenfalls Zygosporen und differenzierte Sporangien. Auf IM Medium dauert die Differenzierung von pigmentierten Zygosporen mindestens 10 Tage und somit länger als beim Wildtyp. Die Zygosporen von UV127 sind auf IM Medium anfangs farblos und werden nach circa einer Woche vorwiegend rötlich bis braun pigmentiert. Schwarzbraun pigmentierte Zygosporen tauchen wesentlich seltener auf.



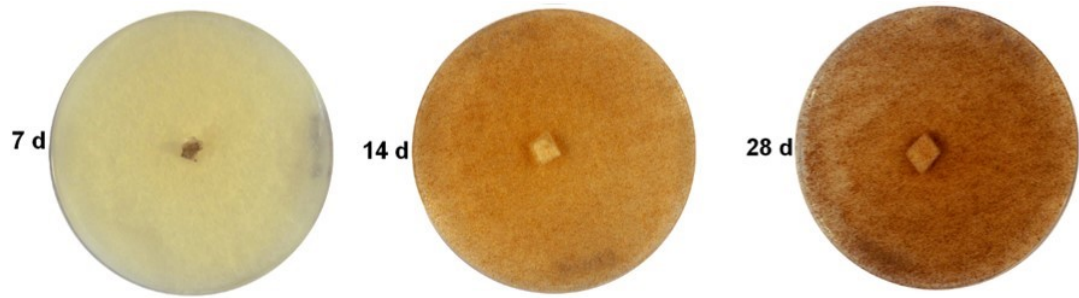
**Abb. 22: Kolonie- und Hyphenmorphologie von UV-Mutante UV127.** Siebentägige Kultivierung bei 20°C im Dunkeln auf IM. Diese Mutante bildet Zygosporangien aus, die eine rotbraune Pigmentierung und eine ungeordnete Warzenoberfläche aufweisen (B). Die asexuellen Sporangien sind nach sieben Tagen noch nicht ausdifferenziert (A). (modifiziert nach Schulz und Wetzels, 2016)

Die Sporangiosporogone scheitert auch im Anfangsstadium blockiert zu sein (Abb. 22). Auf IM Medium werden meist farblose Sporangien ohne Columella und Mitosporen gebildet (Abb. 23). Die Differenzierung zu fertigen Sporangien dauert circa 10 Tage.



**Abb. 23: Calcofluor-Färbung der Sporangien von UV127 (B) und korrespondierendes Lichtbild (A).** Die Mutante wurde sieben Tage auf Induktionsmedium kultiviert und bildet in dieser Zeit unfertige Sporangien aus.

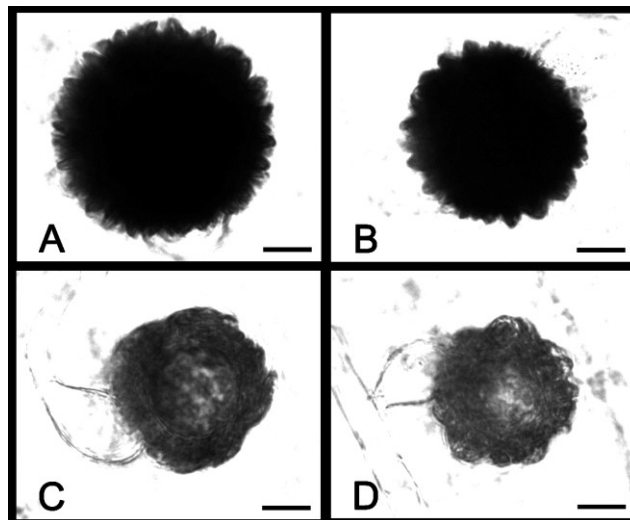
Auch nach längerer Kultivierung sind die Zygosporien noch nicht vollständig differenziert und sind nicht dunkelbraun pigmentiert (Abb. 24).



**Abb. 24: Koloniemorphologie der Methionin auxotrophen Mutante UV127.** UV127 wurde 7–28 Tage im Dunkeln auf Induktionsmedium kultiviert. Mit der Zeit verändert sich die Myzelfarbe deutlich, was auf die vermehrte Bildung von rotbraunen Zygosporien zurückzuführen ist.

Bei Kultivierung von UV127 auf Medium mit sehr wenig Methionin (IM, MM<sub>Met</sub>) sind oft die Hyphen abnormal geformt und verzweigt. Generell sind hier die Zygosporien nicht nur rotbraun pigmentiert, sondern auch kleiner (Abb. 25).

Auch die für *Zygorhynchus moelleri* typisch strukturierte Ornamentierung der Zygosporien-Oberfläche in haarige an einander klebende Warzen ist bei UV127 anders. Die Warzen der Zygosporien sind nicht geordnet und wirken deutlich länger als beim Wildtyp (Abb. 25).

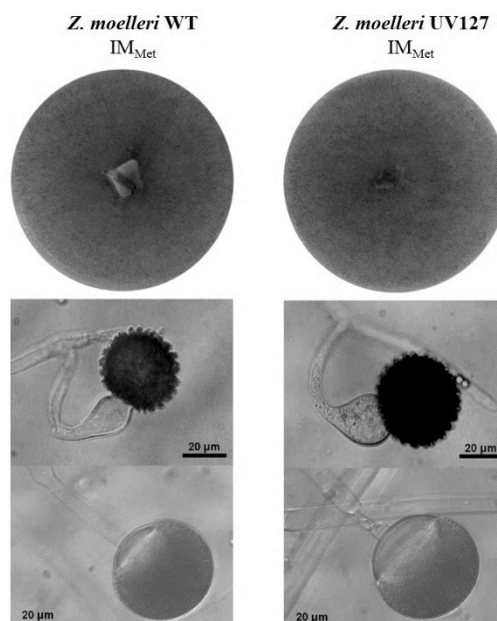


**Abb. 25: Phasenkontrast der Zygosporien Struktur und Ornamentierung von *Zygorhynchus moelleri*.** A und B- Wildtyp. C und D- Methionin-auxotrophe Mutante UV127 mit unstrukturierter Zygosporienoberfläche. (Abbildung aus Schulz und Wetzel, 2016)

Die Defekte in der asexuellen und sexuellen Morphogenese der Methionin-auxotrophen Mutante UV127 auf IM Medium können mit der Zugabe von 220 µM L-Methionin kuriert werden. UV127 zeigt nach Methionin-Supplementierung wieder Wildtypverhalten. Auf



das Wachstum des Wildtyps haben höhere Methioninkonzentrationen im Medium keinen sichtbaren Effekt.



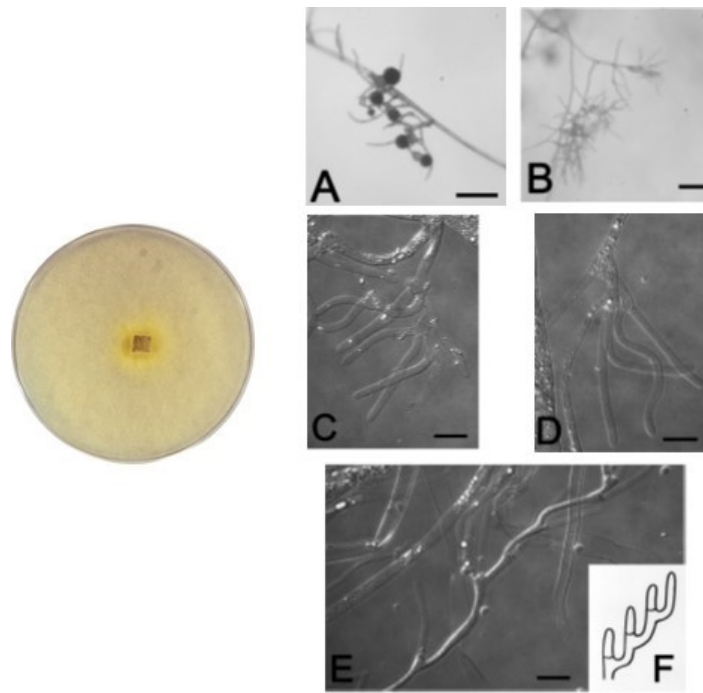
**Abb. 26: Supplementierung des sexuellen und asexuellen Defekts der UV-Mutante UV127 mit Methionin.** Die Mutante verhält sich wie der der Wildtyp (WT). (modifiziert nach Schulz und Wetzel, 2016)

Generell spielt Methionin eine wichtige Rolle für die Zygosporogenese und Sporangiosporogenese von *Zygorhynchus moelleri*.

#### 5.1.3.5 UV139

Die UV-Mutante 139 stammt aus UV-Mutagenese Experimenten von Dr. Jana Wetzel.

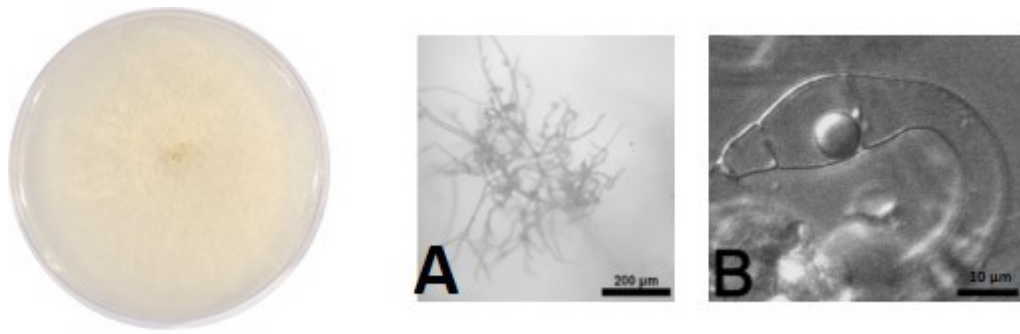
UV139 wächst gräulich und bildet deutlich mehr Lufthyphen auf IM aus. Nach zwei Wochen Kultivierung auf IM wurden weder Zygosporen noch sexuelle Vorstufen beobachtet. UV139 bildet vorwiegend Zygophore aus, die in Nestern oder baumartig strukturiert sind (Abb. 27). Bei Kultivierung der Mutante UV139 auf IM Medium für 7–14 Tage im Dunkeln akkumuliert das Myzel ein gelb-orange-farbiges Pigment. Im Licht inkubierte Platten zeigen diese Färbung nicht.



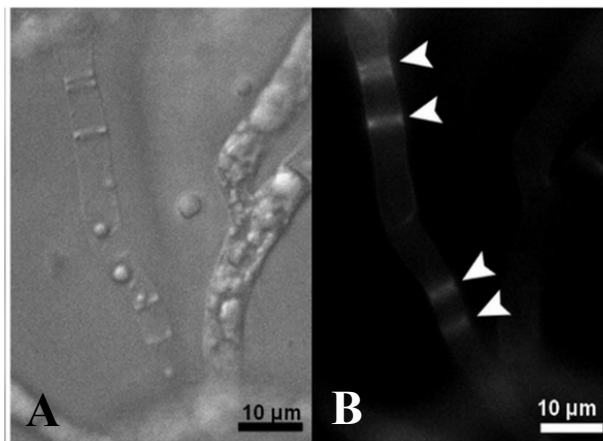
**Abb. 27: Kolonie- und Hyphenmorphologie von UV-Mutante UV139.** Siebentägige Kultivierung bei 20°C im Dunkeln auf IM. Diese Mutante akkumuliert ein gelb-orange-farbiges Pigment bei Kultivierung im Dunkeln. Während der Wildtyp (WT) mehrere Zygosporen zum Teil clusterartig in den Lufthyphen bildet (A), entwickelt UV139 nur Zygophoren (B – E), die zum Teil leiterartig ausgebildet sind (E und F) (modifiziert nach Schulz und Wetzel, 2016)

#### 5.1.3.6 UV542

Die Hyphen dieser Mutante wachsen gekräuselt und bilden lediglich wenige sexuelle Vorstufen von Zygosporen. Um diese Zygosporen-Vorstufen bildet das Myzel meist Korkenzieherstrukturen aus. Während der mikroskopischen Beobachtung von bis zu zwei Wochen alten Kulturen wurden keine fertig differenzierten Zygosporen gefunden (Abb. 28). Das späteste Stadium, das beobachtet werden konnte, war die Gametangien-Bildung. Wie UV139 bildet auch UV542 sehr viele Zygophore aus und das Myzel ist leicht gelblich, wobei diese Akkumulation eines mutmaßlichen Carotinoids keine Lichtabhängigkeit zeigt. Einige Hyphen dieser Mutante sind hyper-septiert. Zygomyceten wachsen normalerweise als Syncytium. Auch der Wildtyp von *Zygorhynchus moelleri* hat vorwiegend unseptierte Hyphen. Lediglich an den sexuellen Strukturen und in einigen Lufthyphen wurden einige stärker septierte Stellen gefunden.



**Abb. 28: Kolonie- und Hyphenmorphologie von UV-Mutante UV542.** Siebentägige Kultivierung bei 20 °C im Dunkeln auf IM. Diese Mutante akkumuliert ein gelbliches, lichtunabhängig gebildetes Pigment, UV542 bildet stark verzweigte Zygophorennester im Luftmyzel aus (A). Die Entwicklung von Gametangien wurde sehr selten ebenfalls beobachtet (B). (modifiziert nach Schulz und Wetzel, 2016)

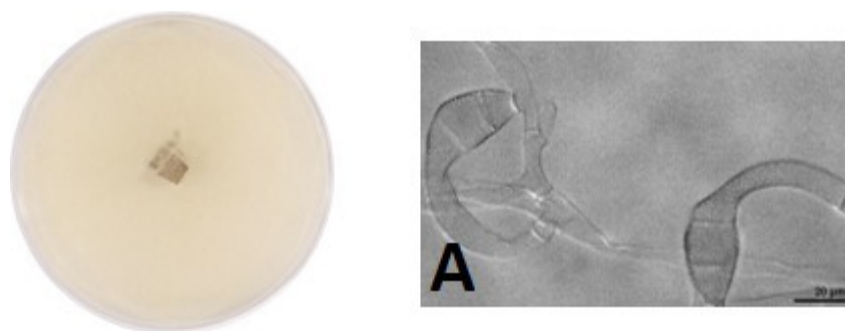


**Abb. 29: Calcofluor-Färbung der Hyphen von UV542 (B) und korrespondierendes Lichtbild (A).** Die Mutante wurde sieben Tage auf Induktionsmedium kultiviert und bildet in dieser Zeit mehrere hyper-septierte Hyphen (weiße Pfeile) aus. (Abbildung aus Schulz and Wetzel, 2016)

### 5.1.3.7 UV554

Die Mutante UV554 bildet Gametangien, die zwar von den Suspensoren durch Septen getrennt sind, jedoch nicht zu einer Zygosporie fusionieren (Abb. 30). Interessanterweise tragen hier die Gametangien und Suspensoren eine hellbraune warzenähnliche Wandstruktur.

Mutante bildet einige abnormale Zygosporien, die durch eine auf die anderen Regionen übergreifende Zygosporien-Zellwand gekennzeichnet sind.



**Abb. 30: Kolonie- und Hyphenmorphologie von UV-Mutante UV554.** Siebentägige Kultivierung bei 20°C im Dunkeln auf IM. Diese Mutante bildet Gametangien aus, die nicht fusionieren (A; modifiziert nach Schulz und Wetzel, 2016)

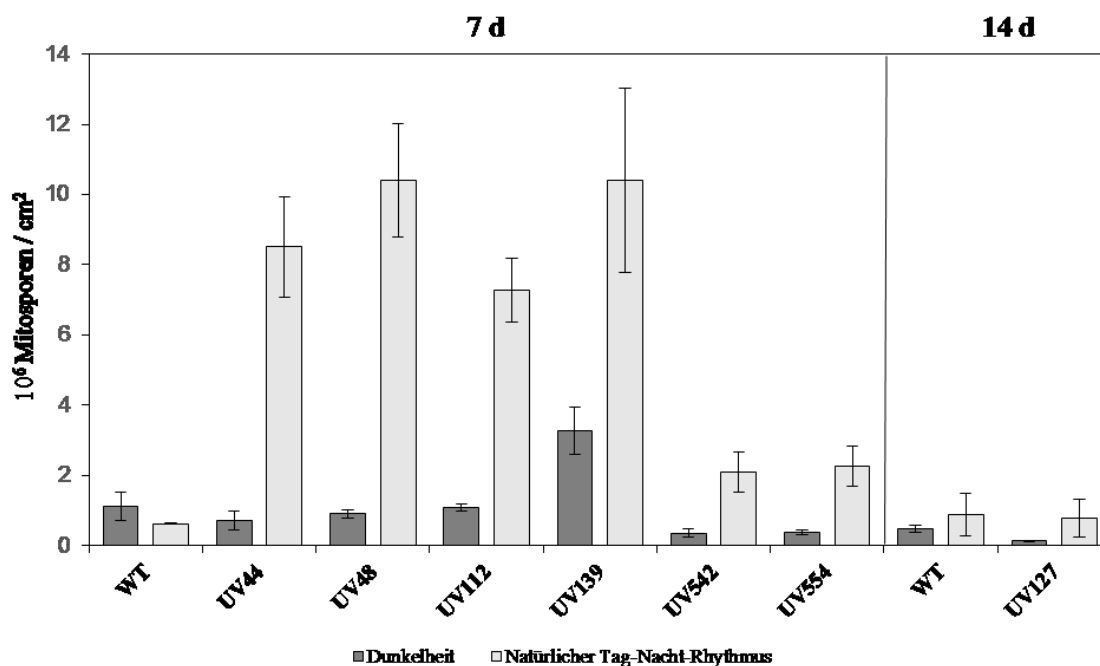
#### 5.1.4 Sporentiter und Keimrate

Im Verlauf der morphologischen Charakterisierung der UV Mutanten fiel auf, dass einige Mutanten auf IM Medium mehr Sporangien im Licht bilden als im Dunkeln. Dieses Phänomen wurde weiter untersucht, indem die Sporentiter von Licht- und Dunkelkulturen auf IM Medium bestimmt wurden. Zum besseren Vergleich wurden die Ergebnisse auf eine Myzel-Fläche von 1 cm<sup>2</sup> normiert (Abb. 31).

Der Wildtyp von *Zygorhynchus moelleri* zeigte dabei keine großen Unterschiede der Sporenzahl in Abhängigkeit der Lichtbedingungen während der Kultivierung. Die Sporenzahlen unterscheiden sich hier nur in einem Faktor von zwei nach sieben Tagen (dunkel:  $1,1 \times 10^6$  Sporen/cm<sup>2</sup>; Licht:  $6 \times 10^5$  Sporen/cm<sup>2</sup>) und 14 Tagen (dunkel:  $4,8 \times 10^5$  Sporen/cm<sup>2</sup>; Licht:  $8,9 \times 10^5$  Sporen/cm<sup>2</sup>) Wachstum.

Der Wildtyp von *Zygorhynchus moelleri* zeigte keine großen Unterschiede der Sporenzahl in Abhängigkeit der Lichtbedingungen während der Kultivierung. Die Sporenzahlen unterscheiden sich hier lediglich um den Faktor zwei nach sieben Tagen (dunkel:  $1,1 \times 10^6$  Sporen/cm<sup>2</sup>; Licht:  $6 \times 10^5$  Sporen/cm<sup>2</sup>) und 14 Tagen (dunkel:  $4,8 \times 10^5$  Sporen/cm<sup>2</sup>; Licht:  $8,9 \times 10^5$  Sporen/cm<sup>2</sup>) Wachstum. Dagegen sind die Unterschiede der UV-Mutanten in Bezug auf lichtabhängige Sporenbildung größer. Dies erkennt man am deutlichsten bei UV44 und UV48. Während diese beiden Mutanten im Dunkeln ungefähr so viele Sporen wie der Wildtyp bilden (UV44:  $7 \times 10^5$  und UV48:  $9 \times 10^5$  Sporen/cm<sup>2</sup>), erhöht sich der Sporentiter um den Faktor 10 unter normalen Tageslichtbedingungen. UV139 bildet im Licht ca. dreimal mehr Sporen als im Dunkeln und zeigt damit die am wenigsten stark ausgeprägte Reaktion auf Licht. Nichtsdestoweniger bildet UV139 dreimal mehr Sporen im Dunkeln als der Wildtyp. Die

Sporenzahl von UV112 liegt unter dunklen Bedingungen in der gleichen Größenordnung wie beim Wildtyp ( $1,1 \times 10^6$  Sporen/cm<sup>2</sup>), während die Mutante im Licht bis zu siebenmal mehr asexuelle Sporen bildet. UV542 und UV554 bilden nur ein Drittel der Sporenzahl des Wildtyps im Dunkeln (UV542:  $3,6 \times 10^5$  und UV554:  $3,8 \times 10^5$  Sporen/cm<sup>2</sup>). Die Sporenzahl beider Mutanten ist im Licht bis zu sechsmal höher als im Dunkeln (Schulz und Wetzel, 2016).



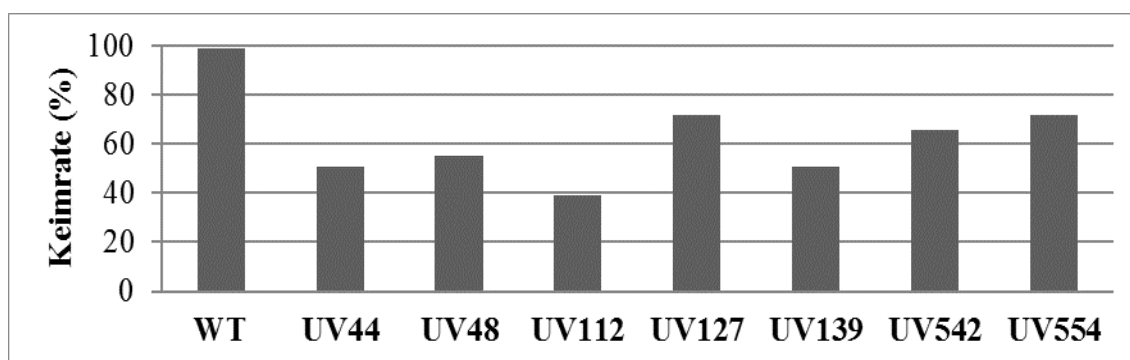
**Abb. 31: Gesamtsporenanzahl pro 1 cm<sup>2</sup> Myzel von *Zygorhynchus moelleri* Wildtyp und UV-Mutanten.** Die Pilze wurden 7 und 14 Tage auf IM bei 20 °C im Dunkeln oder unter natürlichem Tag-Nacht-Rhythmus kultiviert. Die Balken geben die Standardabweichung an. (modifiziert nach Schulz und Wetzel, 2016)

Die Mutante UV127 bildet im Vergleich zu den anderen Stämmen die niedrigste Anzahl an Mitosporen. Wenn man UV127 sieben Tage auf IM ohne zusätzliches Methionin kultiviert, bildet die Mutante nur sehr wenige reife Sporangien. Demzufolge ist die Sporenanzahl mit  $0,06 \times 10^5$  Sporen/cm<sup>2</sup> sehr gering. Nach 14 Tagen Wachstum im Dunkeln ist die Sporenzahl ungefähr 20-mal höher ( $1,3 \times 10^5$  Sporen/cm<sup>2</sup>). Im Licht werden  $7,8 \times 10^5$  Sporen/cm<sup>2</sup> gebildet. Wie in 5.1.3.4 beschrieben, erzielt die Methioninsupplementierung von UV127 wieder das für *Zygorhynchus moelleri* typische Wildtypverhalten in der Zygosporogenese. Dies trifft auch in Bezug auf die asexuelle Entwicklung zu. Zugabe höherer Methioninkonzentrationen führt zu einer 300-fach erhöhten Sporenbildung und liegt damit in der gleichen Größenordnung wie beim Wildtyp (Tabelle 9; Schulz und Wetzel, 2016).

**Tabelle 9: Anzahl der Mitosporen von *Zygorhynchus moelleri* Wildtyp (WT) und UV127 auf Induktionsmedium (IM) mit oder ohne Methioninsupplementierung.** (modifiziert nach Schulz und Wetzels, 2016)

Stamm	IM (Sporen/cm <sup>2</sup> )	IM <sub>Met</sub> (Sporen/cm <sup>2</sup> )
WT	$0,35 \times 10^6 \pm 0,15 \times 10^6$	$0,54 \times 10^6 \pm 0,18 \times 10^6$
UV127	$0,59 \times 10^4 \pm 0,10 \times 10^4$	$1,77 \times 10^6 \pm 0,78 \times 10^6$

Die Keimrate der frisch geernteten Sporen des Wildtyps nach sieben Tagen Kultivierung beträgt nahezu 100 %. Alle Mutanten haben im Vergleich dazu nach der gleichen Kultivierungszeit eine geringere Sporenkeimrate. Hier fällt auch auf, dass die Farbmутanten in der Keimung nicht stark beeinträchtigt sind. Deren Keimrate beträgt ca. die 60 – 70 %. UV112 weist mit nur 40 % die geringste Keimrate auf (Abb. 32).



**Abb. 32: Keimrate frisch geernteter Mitosporen von *Zygorhynchus moelleri* Wildtyp (WT) und den UV-Mutanten.** Die Kulturen wurden 7 Tage auf SUP bei 20 °C im Dunkel kultiviert.

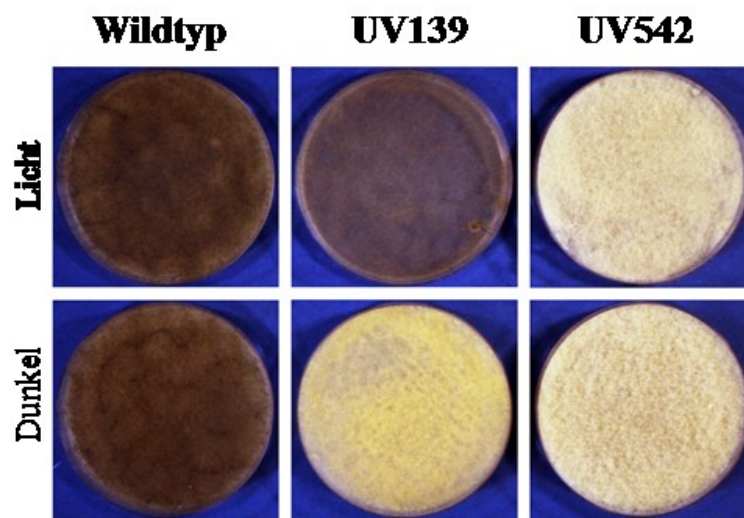
### 5.1.5 Kreuzungstests

Um das sexuelle und parasexuelle Verhalten der UV-Mutanten zu charakterisieren, wurden diese jeweils untereinander sowie mit dem Wildtyp und beiden Kreuzungstypen von *Mucor mucedo*, *Blakeslea trispora* und *Parasitella parasitica* auf IM Medium konfrontiert.

Der Fusionsparasit *Parasitella parasitica* ist in der Lage, etliche Zygomyceten zu parasitieren. Während bei vielen heterothallischen Zygomyceten wie *Absidia glauca* nur komplementäre Kreuzungspartner von Wirt und Parasit miteinander interagieren können, parasitieren beide Kreuzungstypen von *Parasitella parasitica* den Wildtyp von *Zygorhynchus moelleri* (Saleem, 2003). Dies ist bei allen Mutanten ebenfalls der Fall. Die parasexuelle Interaktion zwischen *Parasitella parasitica* und den UV-Mutanten gibt somit keinen Hinweis auf die mögliche sexuelle Orientierung der UV-Mutanten.

## 5.2 Carotin-Extraktion

Der Wildtyp von *Zygorhynchus moelleri* hat ein dunkelgraues Myzel ohne gelbe Pigmentierung, das aus den dunkel pigmentierten Zygosporen und Sporangiosporen resultiert. Die morphologische Analyse zweier UV-Mutanten, UV139 und UV542, zeigte die Akkumulation eines gelb-orangen Pigments. Während UV542 dieses Pigment lichtunabhängig akkumuliert, zeigt UV139 hier eine lichtabhängige Anreicherung, im Dunkeln (Abb. 33; Schulz und Wetzel, 2016).



**Abb. 33:** Akkumulation eines gelb-orange-farbenen Pigments in UV139 und UV542. Dabei akkumuliert UV139 mehr Carotin bei Kultivierung im Dunkeln, während dies bei UV542 lichtunabhängig abläuft. (modifiziert nach Schulz und Wetzel, 2016)

Dieses Pigment wurde aus im Dunkeln und im Licht kultivierten Myzel isoliert und spektroskopisch analysiert. Die UV/VIS Spektren zeigten drei Peaks bei  $477 \text{ nm} \pm 2 \text{ nm}$ ,  $426 \text{ nm} \pm 2 \text{ nm}$  und  $452 \text{ nm} \pm 2 \text{ nm}$ , die typisch für  $\beta$ -Carotin sind. Wie erwartet akkumuliert der Wildtyp nahezu kein  $\beta$ -Carotin, beziehungsweise nur Spuren davon (Abb. 34)

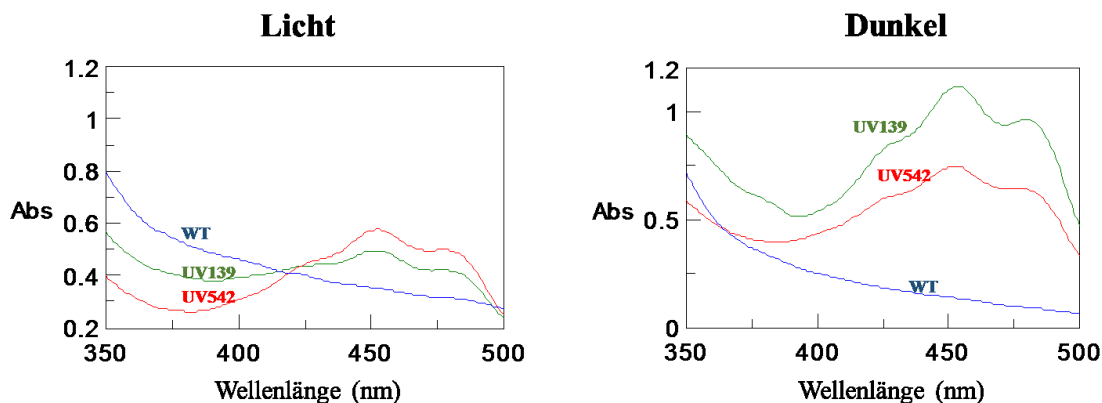


Abb. 34: UV/VIS Absorptionsspektrum des extrahierten Carotins vom Wildtyp (WT) und den beiden UV-Mutanten von *Zygorhynchus moelleri* in Abhängigkeit von der Kultivierungsbedingung. UV139 und UV542 akkumulieren Carotin. Dabei akkumuliert UV139 mehr Carotin bei Kultivierung im Dunkeln.

Die Carotin-Menge von UV542 unterscheidet sich dagegen nicht zwischen den beiden unterschiedlichen Kultivierungsbedingungen. UV139 akkumuliert wie erwartet im Dunkeln bis zu dreimal mehr  $\beta$ -Carotin pro Gramm Trockenmasse (Abb. 35).

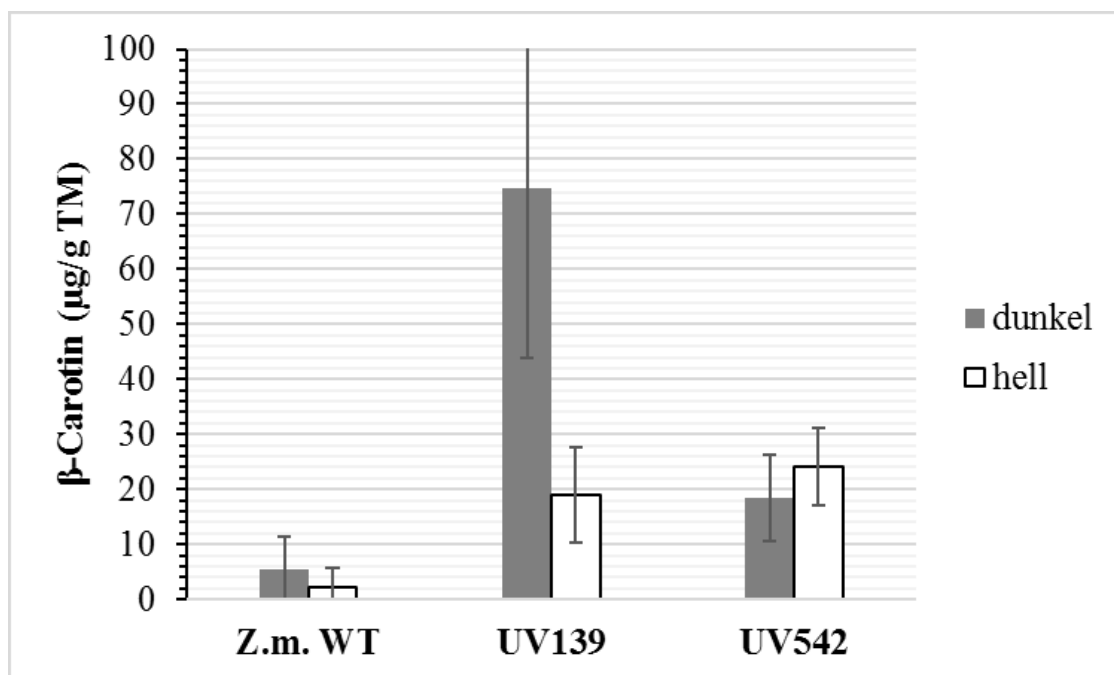


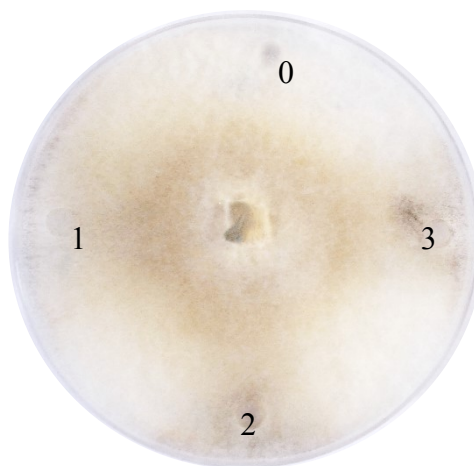
Abb. 35: Carotin-Konzentration pro Gramm Trockenmasse (TM) von *Zygorhynchus moelleri* Wildtyp (WT) und den beiden Mutanten (UV139, UV542) in Abhängigkeit der Kultivierungsbedingung. Der Wildtyp produziert nur Spuren von Carotin, während UV139 in Abhängigkeit vom Licht eine große Menge an Carotin im Myzel akkumuliert. UV542 reichert Carotin licht-unabhängig an. (modifiziert nach Schulz und Wetzel, 2016)



### 5.3 Die Methionin-auxotrophe Mutante UV127

Wie in Abschnitt 5.1.3.4 beschrieben ist die UV Mutante 127 Methionin-auxotroph. Um den genauen Mutationsort einzugrenzen, wurde UV127 mit diversen Vorstufen der Methionin-Biosynthese (Cystein, Homoserin, Homocystein, Cystathionin, S-Adenosylmethionin) supplementiert (Abb. 39). UV127 ist in der Lage auf MM mit Cystein, Homocystein oder Cystathionin zu wachsen. Da die Mutante nicht mit Homoserin supplementiert werden kann, könnte ein Defekt in der Synthese von Homoserin über O-Acetyl-Homoserin zu Cystathionin vorliegen.

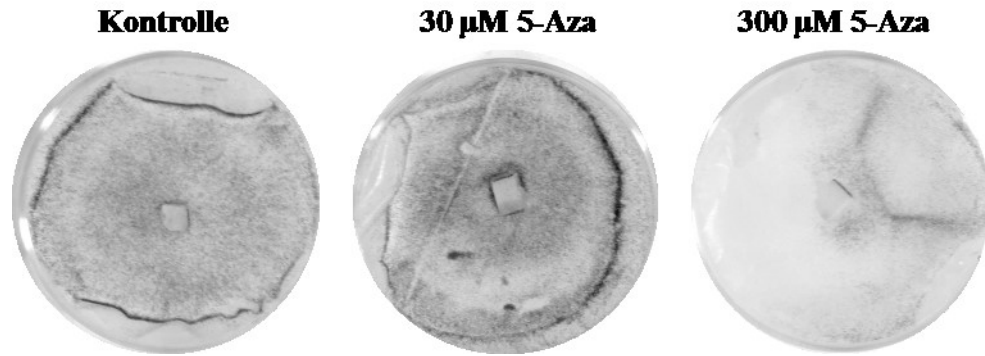
UV127 verhält sich bei Zugabe von externem Methionin wieder wie der Wildtyp. Eine ähnliche, wenn auch etwas geringere Reaktion, lässt sich durch Homocystein und Cystathionin erreichen (Abb. 36).



**Abb. 36: Einfluss von Methioninsynthese-Intermediate auf die Zygosporen-Bildung von UV127.** 0: Wasser; 1: Methionin; 2: Homocystein; 3: Cystathionin. Pro Loch wurden 25 µl eingesetzt.

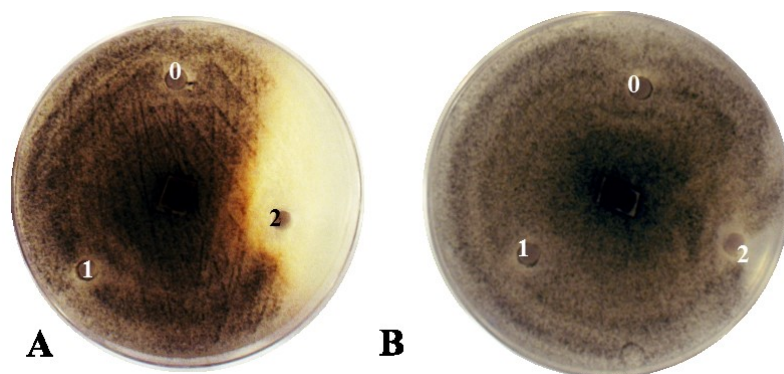
Obwohl der Defekt von UV127 nicht mit SAM kompensiert werden konnte, kann ein Defekt in dessen Methyltransferaseaktivität nicht vollkommen ausgeschlossen werden, da hier auch ein Aufnahmeproblem vorliegen könnte.

Tests mit dem Methyltransferase-Inhibitor 5-Azacytidin zeigten, dass die Zygosporenbildung sowohl im Wildtyp als auch in der mit Methionin supplementierte UV-Mutante inhibiert wird (Abb. 37).



**Abb. 37:** Wirkung des Methyltransferase-Inhibitors 5-Azacytidin (5-Aza) auf die Zygosporienbildung des Wildtyps von *Zygorhynchus moelleri*. Bei erhöhter Konzentration wird die Zygosporogenese gehemmt.

Ethionin, ein weiterer Methyltransferase-Inhibitor, der als Methionin-Analog fungiert, hemmt ebenfalls die sexuelle Entwicklung der UV-Mutante von *Zygorhynchus moelleri*, überraschenderweise jedoch nicht vom Wildtyp. Das Wachstum des Wildtyps wird allerdings mit 100 µM Ethionin etwas gehemmt (Abb. 38).



**Abb. 38:** Einfluss des Methyltransferase-Inhibitors Ethionin auf die Zygosporienbildung von *Zygorhynchus moelleri* Wildtyp (B) und UV127 (A). 0: Wasser; 1: 25 mM; 2: 100 mM. Pro Loch wurden 25 µl eingesetzt. Die Kulturen wurden auf IM<sub>Met</sub> inkubiert.

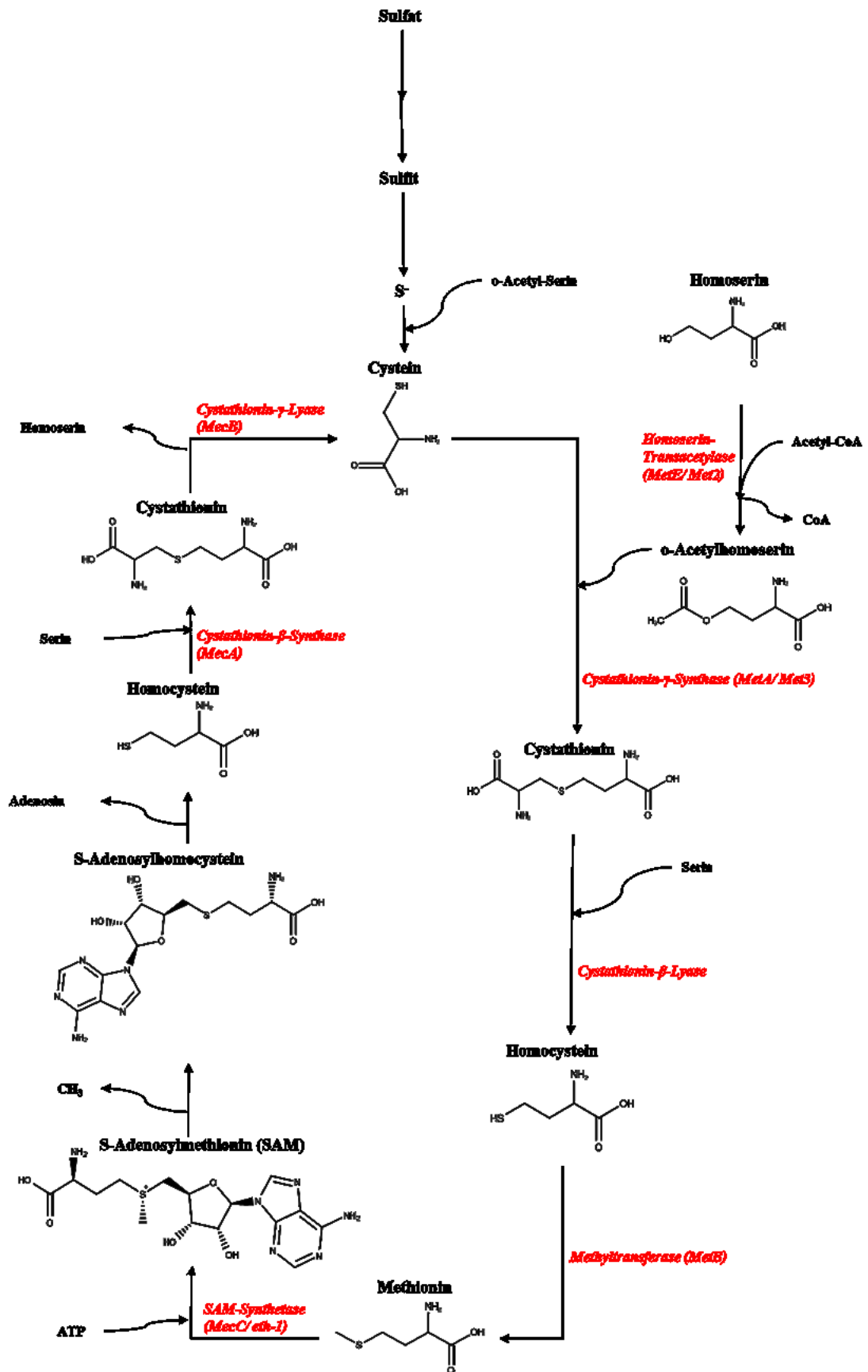


Abb. 39: Methionin Biosyntheseweg von *Aspergillus nidulans*. (modifiziert nach Marzluf, 1997)

Da es sehr schwierig ist, Zygomyceten für Gentransfer-Experimente zu verwenden und über homothallische Zygomyceten generell sehr wenig bekannt ist, sind solche auxotrophen Mutanten auch im Hinblick auf die zukünftige Entwicklung genetischer Manipulationssysteme sehr nützlich.

Aus diesem Grund wurde im Folgenden versucht das defekte Gen des Methioninsyntheseweges zu identifizieren.

Auf Basis der Proteinsequenzen von *Aspergillus nidulans* (aus KEGG) wurden die korrespondierenden Sequenzen verschiedener Mucorales aus den Gendatenbanken NCBI und JGI herausgesucht und Primer erstellt (siehe Anhang Abb. 3–8). Die Amplifikation und anschließende Sequenzierung der Gene für Homoserin-O-Acetyltransferase (*MetE*), Cystathionin  $\gamma$ -Synthase (*MetA*), Adenosylhomocysteinase, Cystathionin- $\beta$ -Synthase (*MecA*), SAM-Synthetase (*MecC*) und Cystathionin- $\gamma$ -Lyase (*MecB*) von UV127 ließen keine Sequenzunterschiede im Vergleich zum Wildtyp erkennen (siehe Anhang Abb. 3–8).

## 5.4 Analyse der Trisporoidextrakte der UV-Mutanten von *Zygorhynchus moelleri*

Um in den Entwicklungsmutanten Störungen im sexuellen Kommunikationssystem der Zygomyceten, das auf dem Zusammenwirken verschiedener Trisporoide basiert, nachweisen zu können, wurde auf dieser Ebene nach eventuell vorliegenden Unterschieden zwischen den Mutanten und dem Wildtyp gesucht. Um einen für alle Stämme vergleichbare Basis zu haben, wurden alle Pilze nach der Anzucht in flüssigem SUP-Medium für fünf Tage in Maltoselösung bei 20 °C im Dunkeln geschüttelt (120 rpm). Anschließend wurden die Trisporoide aus der Maltoselösung extrahiert.

### 5.4.1 Bestimmung der Trisporoidkonzentration

Der natürlich vorkommende Trisporsäure-Überproduzent *Blakeslea trispora* wurde für die Experimente als Positiv-Kontrolle mitgeführt. Während die Absorptionsspektren des pH 2-Extraktes von *Blakeslea trispora* die typischen Absorptionsmaxima bei 325 nm (Trisporsäure) und 283 nm (Vorstufen der Trisporsäure; 4-Dihydromethyltrisporat) und ein Maximum des pH 8-Extraktes bei 282 nm zeigten (Sutter, 1970 und 1987), war bei *Zygorhynchus moelleri* und den entsprechenden Mutanten bei beiden Kulturextrakten nach fünf Tagen Inkubation in Maltoselösung jeweils nur einen Peak bei ungefähr 274 nm zu erkennen (Abb. 40).

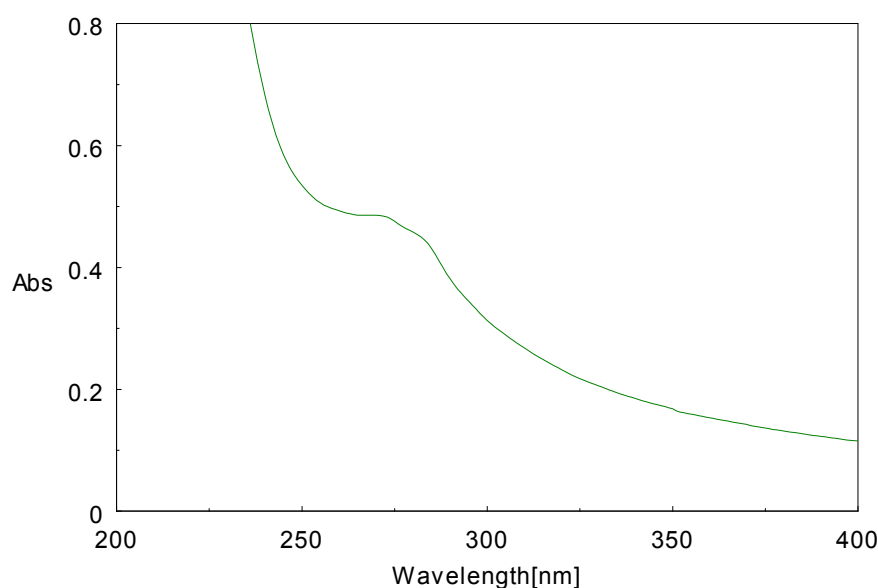


Abb. 40: Typisches Absorptionsspektrum der extrahierten Trisporoide (pH 2-Extrakt) von *Zygorhynchus moelleri* nach fünf Tagen Inkubation in Maltosemedium.

Aus den Absorptionsmaxima bei ungefähr 280 nm und –zusätzlich für *Blakeslea trispora*– bei 325 nm kann man die Konzentrationen an Trisporsäure und deren Vorstufen errechnen.

Die aus den Spektren errechneten Konzentrationen an extrahierten Trisporoiden sind in Tabelle 10 aufgelistet. Die Trisporoidmenge in µg pro Gramm Trockenmasse von *Zygorhynchus moelleri* beträgt beim pH 2-Extrakt lediglich 2 – 18 % und beim pH 8-Extrakt 2,5 – 21 % der von *Blakeslea trispora* produzierten Menge. Verdeutlicht wird dies nochmal in Abb. 41 und Abb. 42. Andere Zygomyceten wie *Absidia glauca* und *Absidia spinosa* produzieren im Vergleich zu *Zygorhynchus moelleri* deutlich geringere Mengen an Trisporoiden (Saleem, 2003).

Die extrahierte Menge an Trisporoiden aus Wildtyp und Mutanten von *Zygorhynchus moelleri* bewegt sich ungefähr zwischen den von Schimek et al. (2003) veröffentlichten Werten für *Mucor mucedo* (0,08 mg) und *Mucor indohii* (0,15 mg) und entspricht somit etwa dem erwarteten Bereich. Die Produktionsmenge für Trisporoide ist bei *Blakeslea trispora* als Überproduzent ist unter den hier verwendeten Bedingungen mit 1,15 mg pro Gramm Trockengewicht sechsfach geringer als der veröffentlichte Wert von 6,39 mg.

		pH 2			pH 8	
Stamm	TM (g)	c(mg/ml)	mg TA pro 2 l KM	µg TA/ g TM	c(mg/ml)	mg TA pro KM
<i>B. trispora</i> KK	13,43	3,68	15,44	1150	1,48	5,92
<i>Z. moelleri</i> WT	15,2	0,46	0,69	23	0,58	0,87
den (TV) von <i>Blakeslea trispora</i> Kreuzkultur (KK), <i>Zygorhynchus moelleri</i> FSU 531 WT und den UV-Mutanten. Nach Anzucht Tage in Maltosemedium im Dunkeln bei 20 °C und 120 rpm inkubiert. Die Trisporoide von <i>Blakeslea trispora</i> wurden in 4 ml 100 % e von <i>Zygorhynchus moelleri</i> und den Mutanten in 1,5 ml 100 %-igem Ethanol	18,84	0,71	1,07	76	0,53	0,8
UV 48	14,08	0,42	0,63	44	0,32	0,48
UV 112	14,28	0,42	0,63	44	0,32	0,48
UV 127	10,91	0,71	1,06	97	0,39	0,59
UV 139	18,82	0,39	0,59	31	0,14	0,21
UV 542	11,38	0,54	0,81	71	0,12	0,18
UV 554	17,99	0,73	1,1	61	0,24	0,36

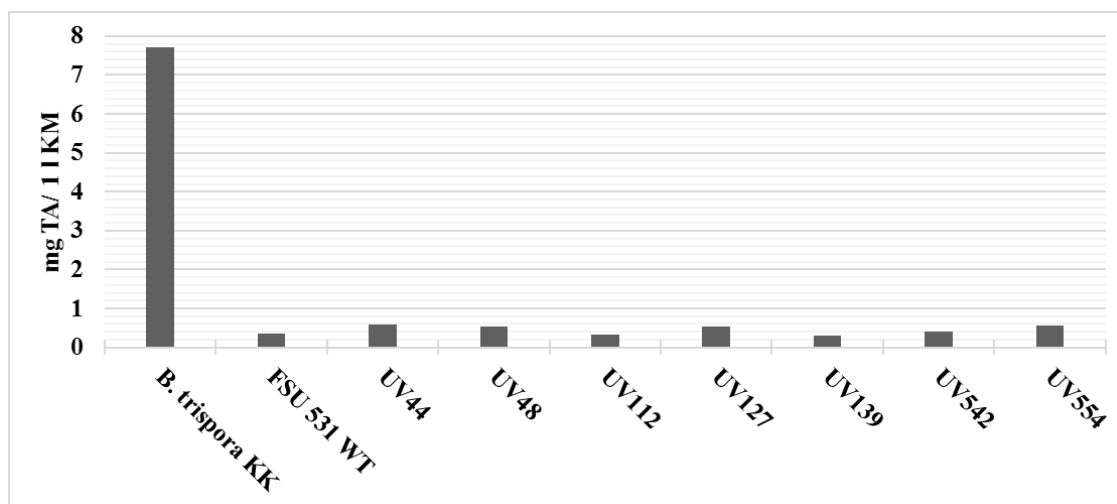


Abb. 41: Gesamtmenge an Trisporoiden (TA) im pH 2-Extrakt. Norminiert auf einen Liter Kulturmedium (KM) von *Blakeslea trispora*, *Zygorhynchus moelleri* FSU 531 Wildtyp und den UV Mutanten nach fünf Tagen Inkubation in Maltoselösung.

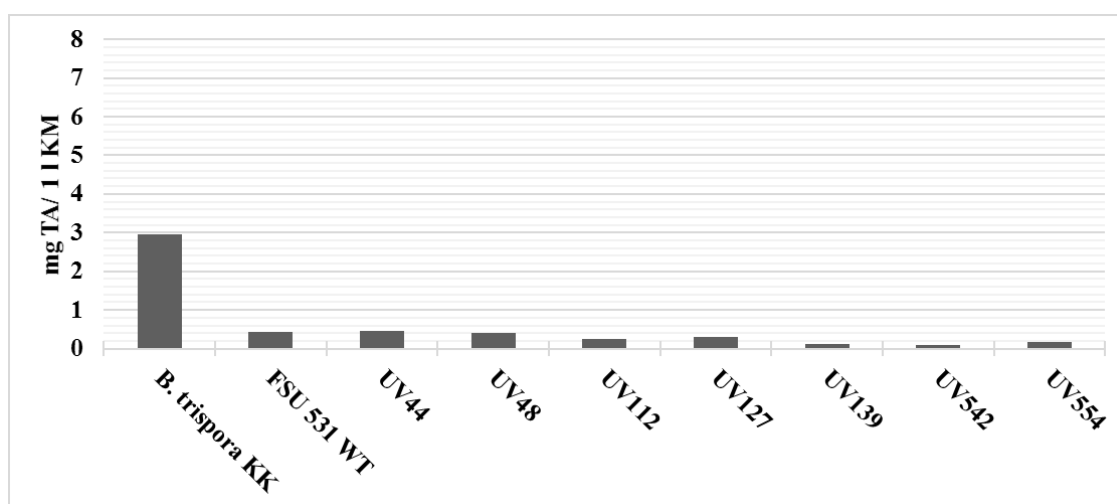


Abb. 42: Gesamtmenge an Trisporoiden (TA) im pH 8-Extrakt. Norminiert auf einen Liter Kulturmedium (KM) von *Blakeslea trispora*, *Zygorhynchus moelleri* FSU 531 WT und den UV Mutanten nach fünf Tagen Inkubation in Maltoselösung.

#### 5.4.2 Dünnschichtchromatographische Analyse der Trisporoide

Die Extrakte wurden über Dünnschichtchromatographie (DC) aufgetrennt.

Abb. 43 zeigt die chromatographische Trennung der pH 2- und pH 8-Extrakte der UV Mutanten im Vergleich mit den Extrakten des Wildtyps und *Blakeslea trispora* auf einer Kieselgel-Platte mit Fluoreszenzlöcher.

Dabei erhält man drei verschiedene Arten von Banden: Blau fluoreszierende Banden, die entweder Steroide oder Fettsäuren darstellen, sieht man in Abb. 43 als weiße Flecken.



Die anderen dunklen, also fluoreszenzlöschenden UV-absorbierenden Banden enthalten Trisporoide.

Zusätzlich erscheinen bei Auftrennung des pH 2-Extraktes des Wildtyps und der UV-Mutanten jeweils zwei gelbe im Tageslicht sichtbare Banden mit den gleichen Rf Werten von ~0,33 und ~0,43. Diese Banden treten nicht bei der Kreuzkultur von *Blakeslea trispora* auf und erscheinen entweder als dunklere oder blau fluoreszierende Banden (nicht im Bild erkennbar, da zu schwach; schwarzer Balken). Tests mit Molbydatophosphorsäure zeigten, dass es sich hierbei ebenfalls um reduzierende Substanzen, also etwa um Steroide oder Lipide handeln könnte.

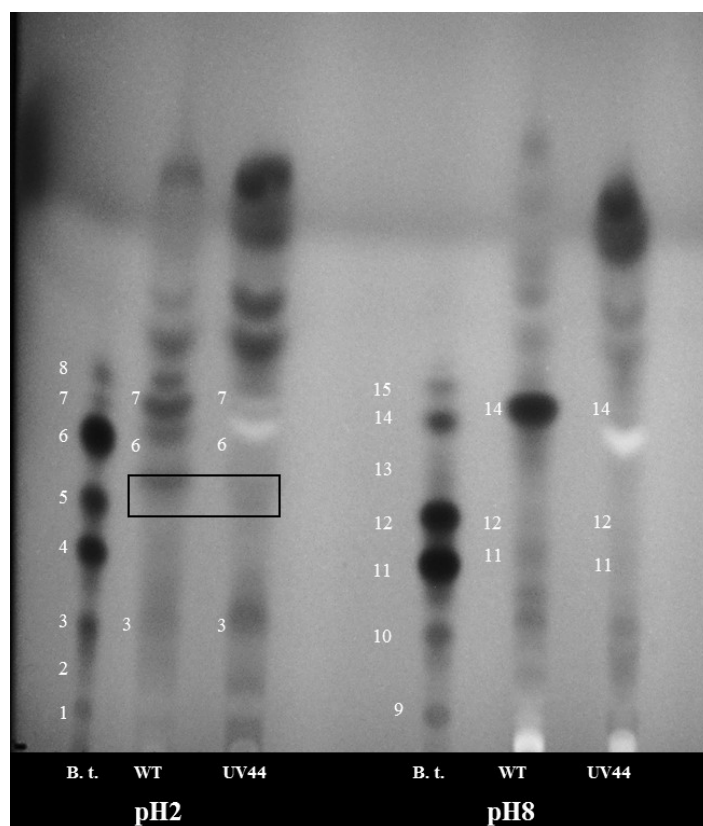
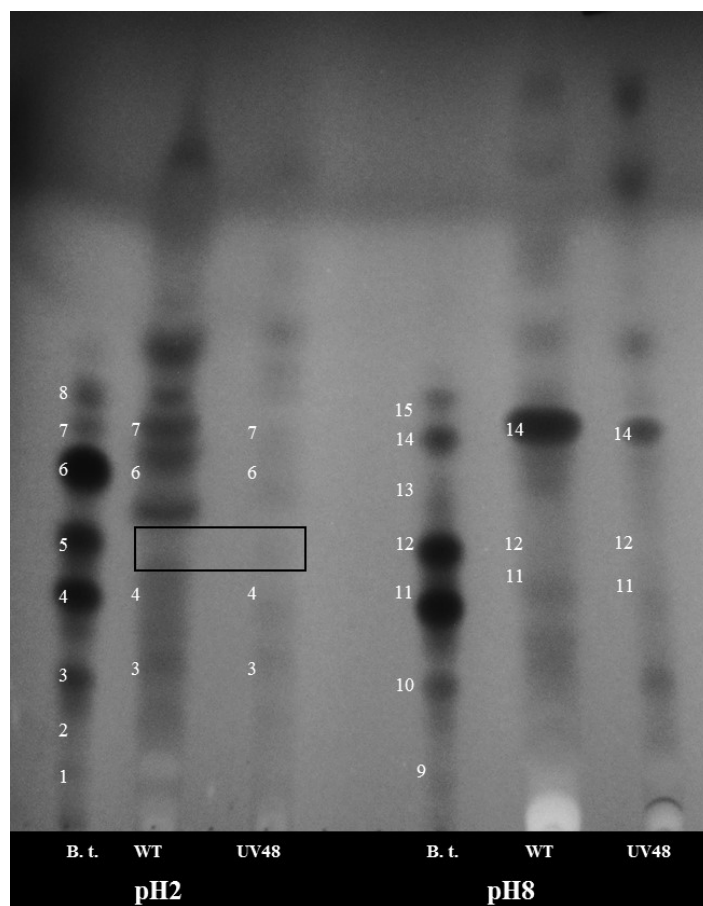
Das Bandenmuster der Extrakte von *Blakeslea trispora* ist typisch und kann anhand der Retentionsfaktoren (Rf- Werte) mit den von Schimek et al. (2003) veröffentlichten Werten für verschiedene Trisporoid-Derivate verglichen werden.

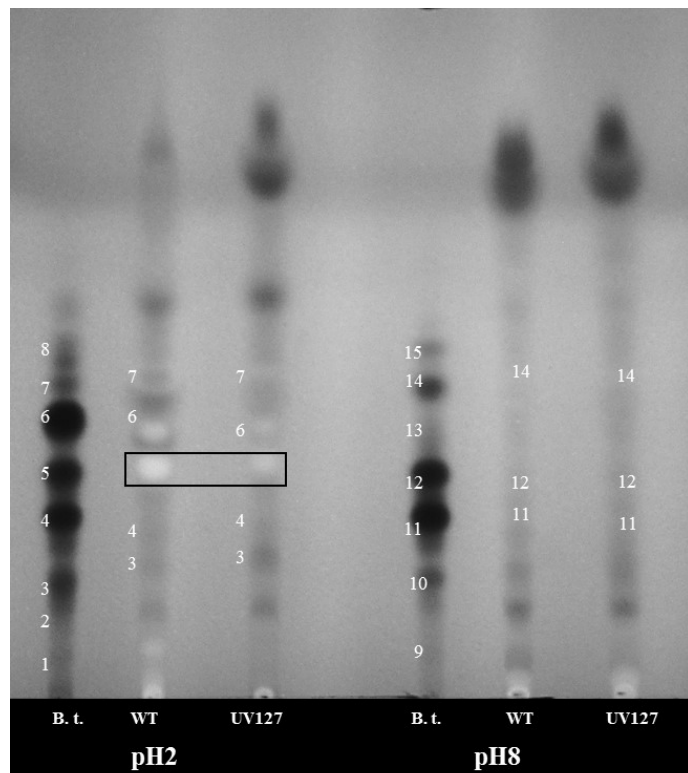
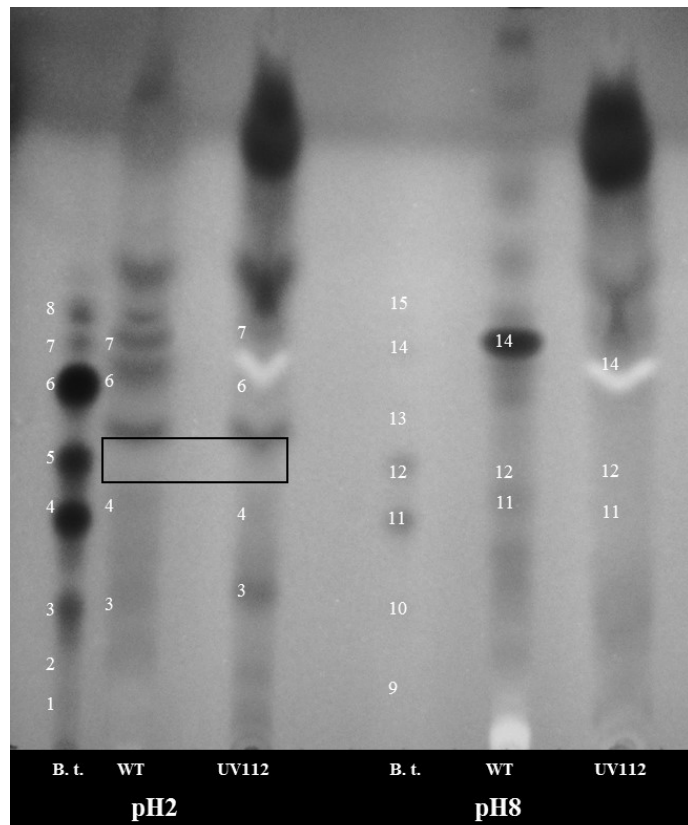
Im pH 2- Extrakt von *Blakeslea trispora* befinden sich Isoformen von Trisporinsäure oder Methyltrisporat mit den Rf-Werten 0,23, 0,36 und 0,52 (7 und 1 aus Abb. 43). Die Isoformen von Trisporin und Trisporol finden sich in beiden Extrakten bei 0,3 oder 0,28 wieder (4 aus Abb. 43) und Isoformen von 4-Dihydromethyltrisporat bei Rf 0,2 in pH 8 und in beiden Extrakten Rf 0,59 und 0,61 (7, 14 und 11 aus Abb. 43).

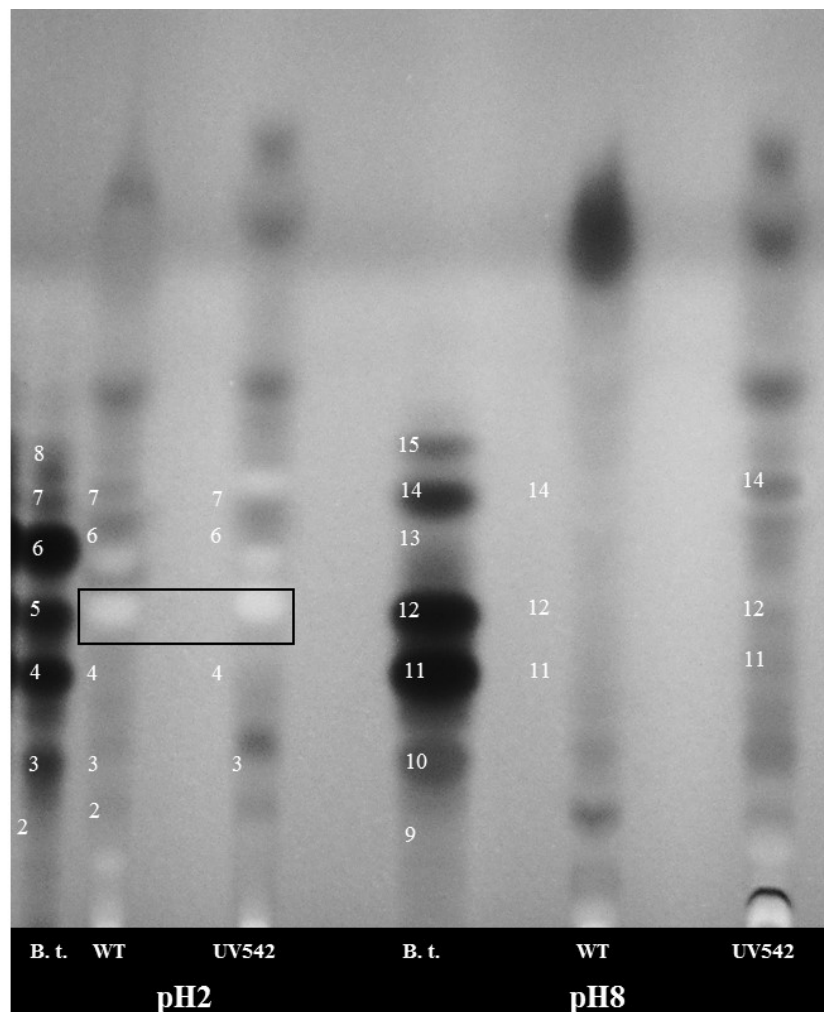
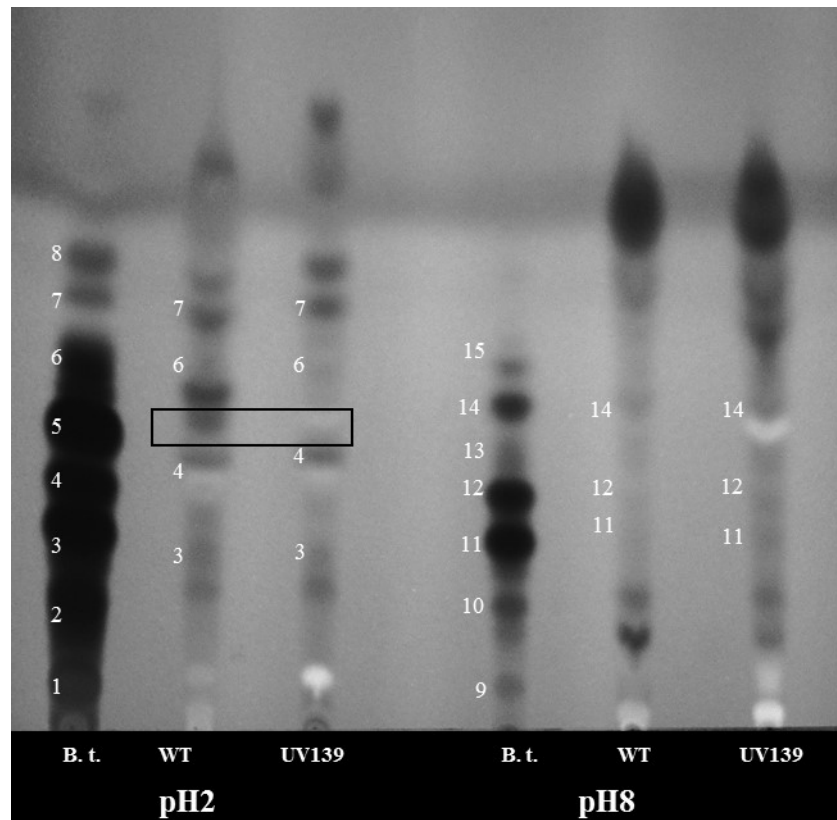
Das DC Bandenmuster des pH 2-Extraktes von *Zygorhynchus moelleri* unterscheidet sich wie bei *Blakeslea trispora* vom Muster des pH 8-Extraktes. Beim Wildtyp von *Zygorhynchus moelleri* erscheinen im pH 2-Extrakt die Banden 6 und 4 (Isoformen von Trisporinsäure oder Methyltrisporat) und im pH 8-Extrakt 14 und 11 (Isoformen von 4-Dihydromethyltrisporat).

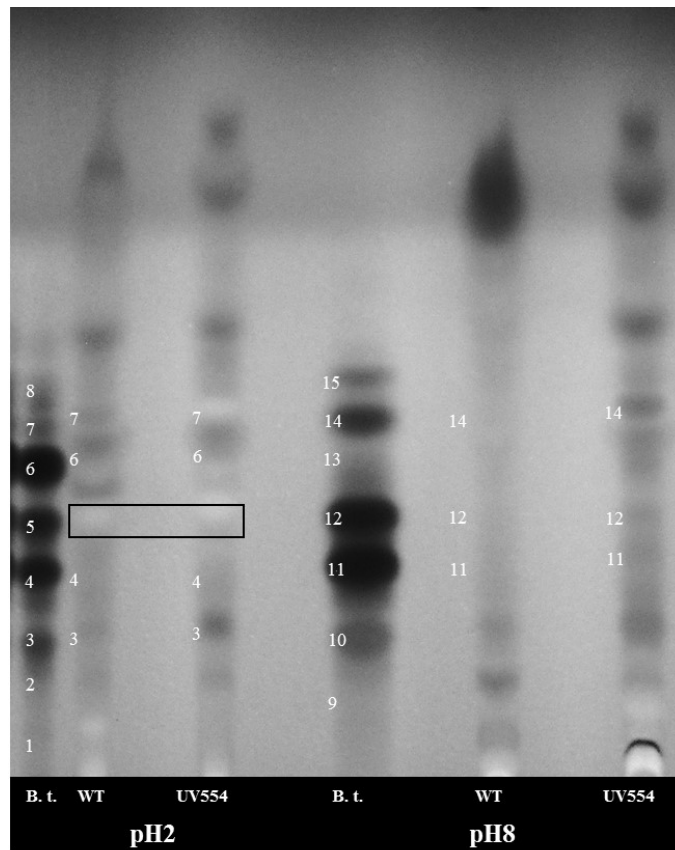
Bei pH 2- und pH 8-Extrakten befinden sich nahe der Laufmittelfront starke Doppelbanden mit Rf 0,7 und 0,8. Diese Banden wurden in Schimek et al. (2003) bei den einzelnen Kreuzungstypen jedoch nicht bei der Kreuzkultur von *Mucor indohii* ebenfalls detektiert.

In den pH 2-Extrakten aller Mutanten finden sich die Isoformen für Trisporinsäure und Methyltrisporat wieder (4 und 6 aus Abb. 43). Banden mit Rf-Werten bei 0,6 im pH 2-Extrakt für die Isoformen von 4-Dihydromethyltrisporat (7) finden sich in allen UV-Mutanten wieder.









**Abb. 43:** DC-Chromatogramme von je 40 µg pH 2- und pH 8-Extrakt von *Blakeslea trispora*, *B. t.* (+/-), *Zygorhynchus moelleri* Wildtyp (WT) und den UV-Mutanten. 20 x 20 cm Kieselgel 60 F254 (Merck, Darmstadt) in Trichloromethan:Ethylacetat:tert. Butylmethylether:Essigsäure (5:3:1.5:0.5); Anregungswellenlänge: 312 nm.

### 5.4.3 Biologische Aktivität der Trisporoide und des Kulturmediums

*Mucor mucedo* bildet bei Zusatz von Trisporoiden Zygothoren aus. Dabei reagiert der (–)-Kreuzungstyp generell stärker als der (+)-Kreuzungstyp. Als Positivkontrolle wurden beide Extrakte von *Blakeslea trispora* getestet. Hierbei bildete *Mucor mucedo* (–) im pH 8-Extrakt 22 Zygothoren/mm<sup>2</sup> und im pH 2-Extrakt 53 Zygothoren/mm<sup>2</sup>. Als Negativkontrolle wurde 100 % Ethanol verwendet. Die Extrakte von *Blakeslea trispora* Kreuzkulturen besitzen volle biologische Aktivität.

Sowohl die Mutanten als auch der Wildtyp zeigten bei dem Zygothoreninduktionstest keine Reaktion. Hierbei ist allerdings zu erwähnen, dass *Zygorhynchus* normalerweise keine Zygothoren etwa in der Art der gerichtet wachsenden Strukturen des heterothallischen *Mucor mucedo* bildet, sondern über Auswuchs einer Seitenhyphale und Fusion mit der Hyphenspitze in den Differenzierungsweg zu den Zygothoren eintritt. Aus diesem Grund könnte man Zygothoren nicht exakt unter dem Mikroskop ausmachen.

Vom Wildtyp und den Mutanten wurden die pH 2- und pH 8-Extrakte mit *Mucor mucedo* (+) und (–) getestet. Hier kam es weder zur Zygothorenbildung noch zu weiteren Reaktionen von *Mucor mucedo*, wie schon bei den Kreuzungen mit den Mutanten. Bei den Tests der Trisporoidextrakte der Mutanten auf *Mucor mucedo* kam es ebenfalls nicht zu sichtbaren Reaktion. Höchstwahrscheinlich unterscheiden sich die Trisporoid-Derivate und -Isoformen im sexuellen System von *Mucor mucedo* und *Zygorhynchus moelleri*.

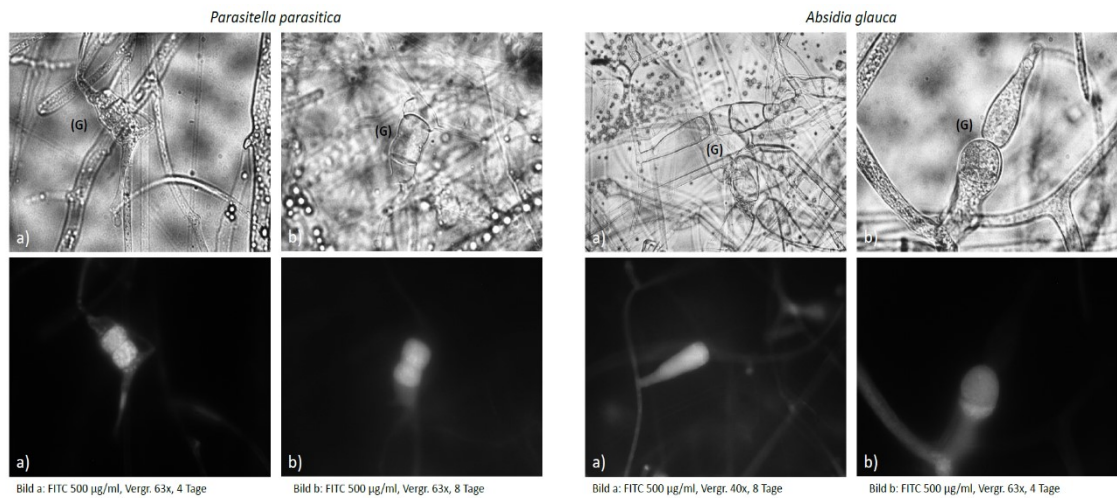
## 5.5 Polyamine und Transglutaminasen in Mucorales

Um eine bessere Lesbarkeit dieser Dissertation zu gewährleisten, werden im folgenden Abschnitt einige Ergebnisse der an diesem Lehrstuhl angefertigten Bachelorarbeit von Hendrike Dürichen mit dem Titel „Fluoreszenzmikroskopische Untersuchung von sexuellen und parasitischen Interaktionen bei den Zygomyceten *Absidia glauca* und *Parasitella parasitica*“ referiert. Diese werden im Text als solche gekennzeichnet.

### 5.5.1 FITC Färbung (angelehnt an Hendrike Dürichen)

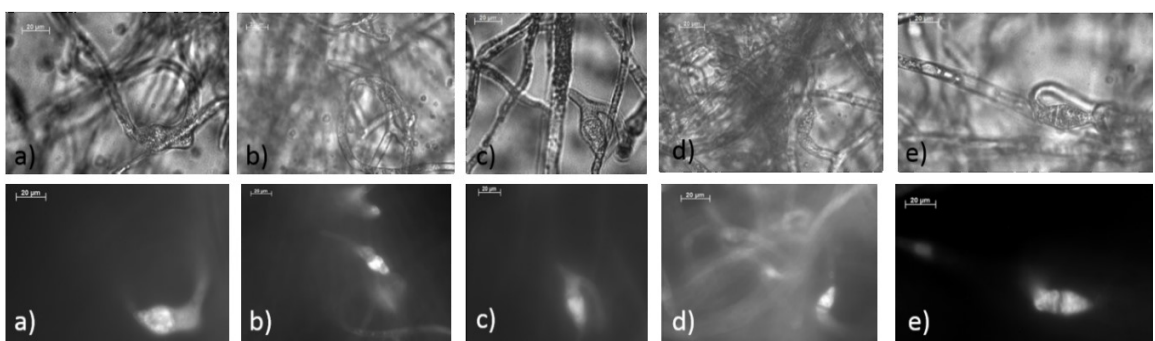
Der Fluoreszenzfarbstoff Fluroescien Isothiocyanat (FITC) ist ein Fluorescein-Derivat und bindet an freie Amin- oder Sufhydryl-Gruppen von Proteinen (Cherry et al., 1969).

Bei der Färbung sexueller Strukturen von *Parasitella parasitica* und *Absidia glauca* mit 500 µg/ml FITC wurde beobachtet, dass vor der Fusion nur die Gametangien (G) bzw. Progametangien eines einzigen Kreuzungspartners fluoreszieren. Nach der Fusion fluoresziert die Fusionszone beider komplementärer Kreuzungstypen (Abb. 44).



**Abb. 44: Färbung der sexuellen Interaktion von *Parasitella parasitica* und *Absidia glauca* mit FITC und korrespondierende Lichtbilder.** (Bilder: Hendrike Dürichen)

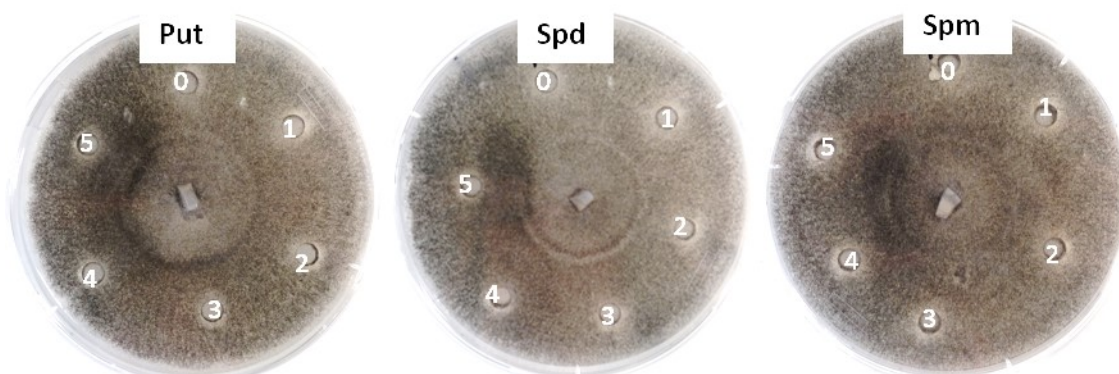
Die sexuellen Strukturen von *Zygorhynchus. moelleri* wurden zum Vergleich ebenfalls mit 500 µl/ml FITC gefärbt. Dabei fluoreszierte wie bei den heterothallischen Zygomyceten nur eine Gametangie (Abb. 45).



**Abb. 45: Färbung der sexuellen Strukturen von *Zygorhynchus moelleri* mit FITC und korrespondierende Lichtbilder.** (Bilder: in Zusammenarbeit mit Hendrike Dürichen)

### 5.5.2 Polyamine

Die völlig unerwartete asymmetrische Fluoreszenz-Markierung mit dem primär wenig selektiv bindenden FITC der frühen sexuellen Stadien führte zu weitergehenden Untersuchungen.



**Abb. 46: Einfluss von Polyaminen auf die Zygosporangien-Bildung im Wildtyp von *Zygorhynchus moelleri*.** 0: Wasser; 1: 6 mM; 2: 12 mM; 3: 25 mM; 4: 50 mM; 5: 100 mM Putrescin (Put), Spermidin (Spd) und Spermin (Spm). Pro Loch wurden 150 µl eingesetzt.

Polyamine sind bei sehr vielen Organismen und auch bei Pilzen in verschiedene Wachstums- und Differenzierungsprozesse involviert (Couée et al., 2004; Heby, 1995; Ruiz-Herrera, 1994).

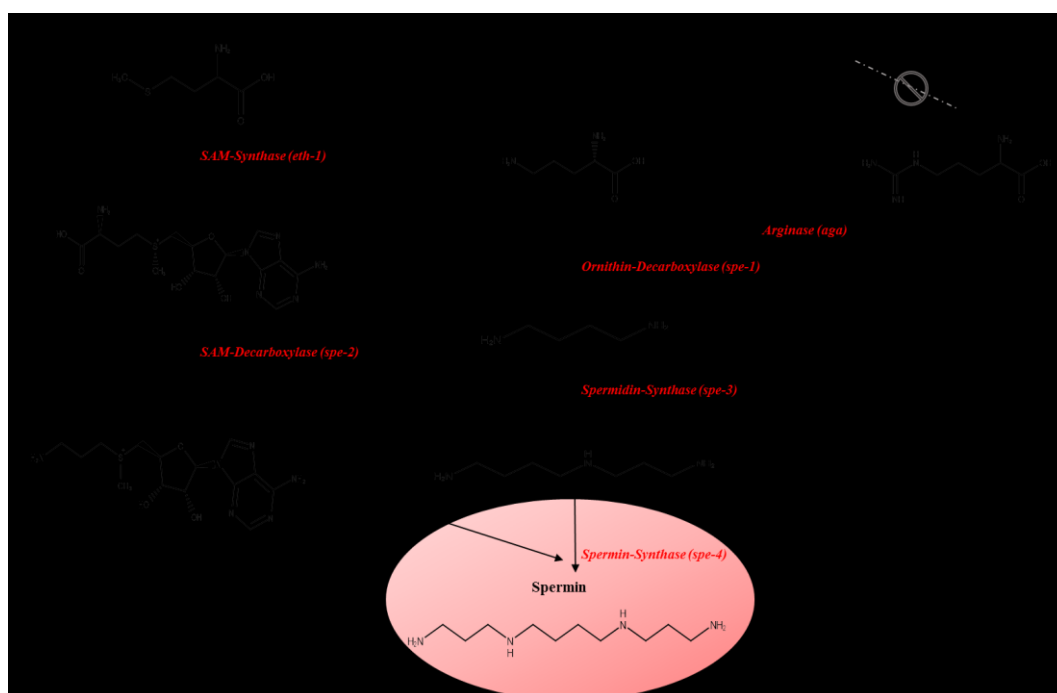
Mit Zugabe von Polyaminen, etwa Spermidin, Spermin oder Putrescin, wird die Zygosporangienbildung von *Zygorhynchus moelleri* induziert. Dieser Effekt ist konzentrationsabhängig. Je höher die Polyaminkonzentration, desto deutlicher ist die vermehrte Zygosporangienbildung erkennbar. Dabei reagiert *Zygorhynchus moelleri* stärker auf Putrescin und Spermidin. Um auszuschließen, dass dieses Phänomen eher von der Richtung des einseitig einfallenden Lichts während der Inkubation ist, wurde der Versuch wiederholt. Dabei wurden keine Unterschiede festgestellt.

Polyamine, Putrescin (Diamin), Spermidin (Triamin) und Spermin (Tetraamin) sind offenkettige organische Verbindungen mit endständigen Aminogruppen. Die Synthese der Polyamine in Pilzen ähnelt der Synthese in anderen Eukaryoten (Pegg, 1986), mit der Ausnahme, dass bisher in den Mucorales nur Putrescin und Spermidin nachgewiesen wurden (Calvo-Mendez und Ruiz-Herrera, 1987; Ruiz-Herrera, 1994). In anderen Pilzen ist Spermidin das häufigste Polyamin, während Putrescin in wesentlich geringeren Mengen vorkommt (Paulus et al., 1983)

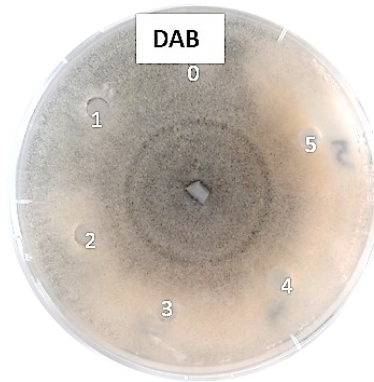


Die Synthese beginnt mit der Decarboxylierung von Ornithin zu 1,4-Diaminobutan, Putrescin (Abb. 47). Für die weitere Synthese wird decarboxyliertes S-Adenosylmethionin (dcSAM) benötigt, das aus Methionin synthetisiert wird. Aus Methionin entsteht dabei zunächst mit Hilfe des Enzyms SAM-Synthase das S-Adenosylmethionin (AdoMet), das von der SAM-Decarboxylase zu dcSAM decarboxyliert wird. Die Synthese von Spermidin aus Putresin und Spermin aus Spermidin verläuft über den Transfer der Aminopropylgruppen von dcSAM (Abb. 47).

Wichtigster Inhibitor für die Synthese von Polyaminen ist der kompetitive ODC-Inhibitor 1,4-Diamino-2-butanon (DAB). DAB blockt das Enzym Ornithindecarboxylase (ODC) und somit die Synthese von Putrescin und Spermidin. DAB hat einen Effekt auf die Sporenkeimung in Mucorales. Die Bildung der Sporangien wird unterdrückt, das Myzel wächst nur noch vegetativ. Zusätzlich wird bei *Zygorhynchus moelleri* auch die Bildung von Zygosporen gehemmt (Abb. 48). Diese Effekte sind konzentrationsabhängig.



**Abb. 47: Die Polyamin-Biosynthese in *Neurospora crassa* und *Saccharomyces cerevisiae*.** *aga-* Gen für Arginase in *N. crassa*; Bezeichnung in *S. cerevisiae*: *CAR1*. *Spe-4* wurde bisher nur in *S. cerevisiae* identifiziert. (modifiziert nach Agostinelli, 2014)

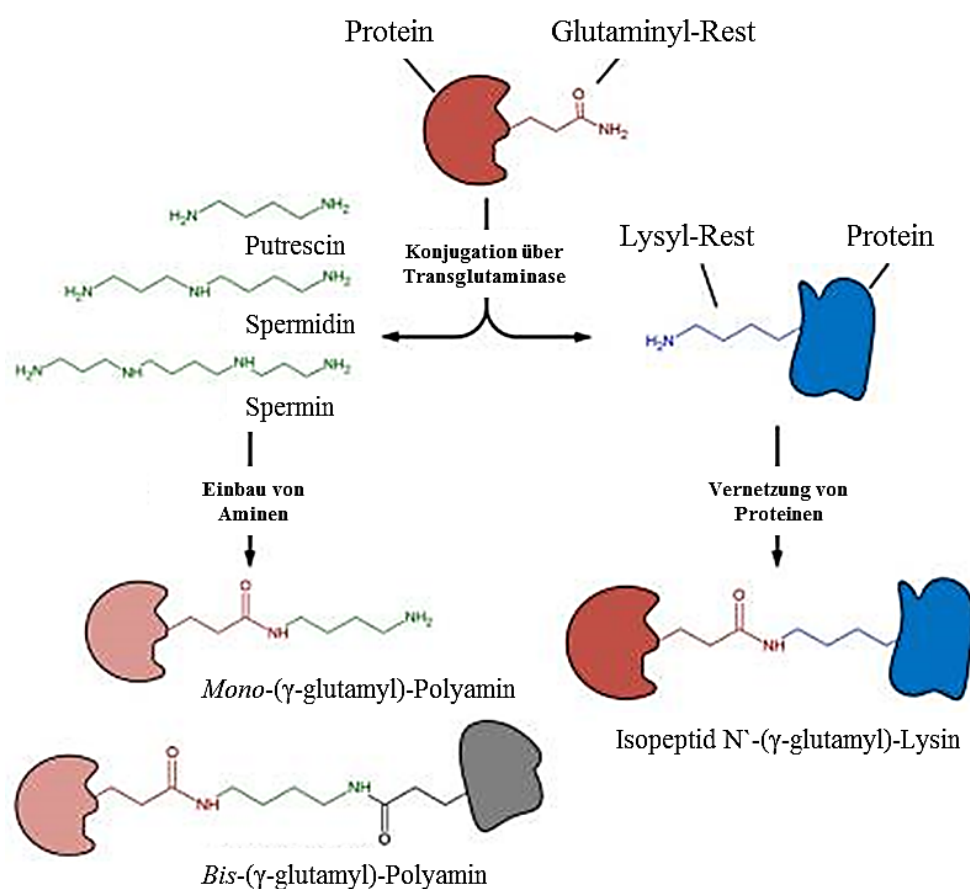


**Abb. 48: Einfluss des Ornithin-Synthase-Inhibitors Diaminobutanon (DAB) auf die Zygosporen-Bildung und das Wachstum von *Zygorhynchus moelleri*.** 0: Wasser; 1: 6 mM; 2: 12 mM; 3: 25 mM; 4: 50 mM; 5: 100 mM). Pro Loch wurden 200 µl eingesetzt. Die sichtbare Bräunung ist lediglich im Medium erkennbar und auf eine Oxidation zurückzuführen.

Aufgrund der längeren Diffusionszeit tritt die Inhibierung der Polyamin-Synthese mit DAB erst einige Tage nach dem Myzelwachstum auf, wenn die Polyamin-Konzentration hoch genug ist, um Proteinsynthese und Zellwachstum aufrecht zu erhalten.

### 5.5.3 Transglutaminasen

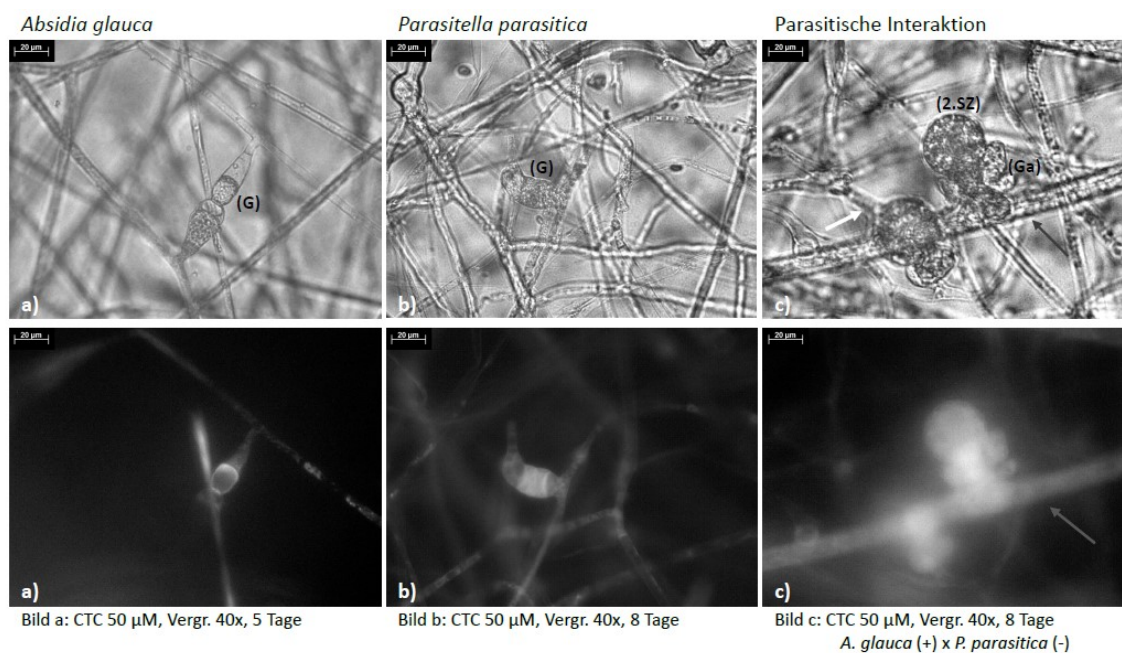
Polyamine kommen beispielsweise in Pflanzen in freier und gebundener Form in den Zellen vor und interagieren mit verschiedenen wichtigen Molekülen. Einige dieser Interaktionen werden durch Transglutaminasen katalysiert, die an der Zelloberfläche lokalisiert sind. Diese kovalente Verknüpfung von Proteinen und Polyaminen über Transglutaminasen ist Calcium-abhängig (Abb. 49; Del Duca et al., 2014). Bei dieser Reaktion entstehen freie Aminogruppen.



**Abb. 49: Reaktion der Transglutaminase (TGase).** TGase kann eine Quervernetzung von Polyaminen mit Proteinen über die Bindung katalysieren. Diese Reaktion ist Calcium-abhängig. TGase katalysiert zudem einen Acyl-Transfer zwischen einer  $\gamma$ -Carboxamide-Gruppe eines Proteins mit Glutaminyl-Rest und einem Protein mit Lysyl Rest. Dabei kommt es zu einer Proteinvernetzung. (modifiziert nach Del Duca et al., 2014)

### 5.5.3.1 Färbung von intrazellulärem Calcium (zusammen mit Hendrike Dürichen)

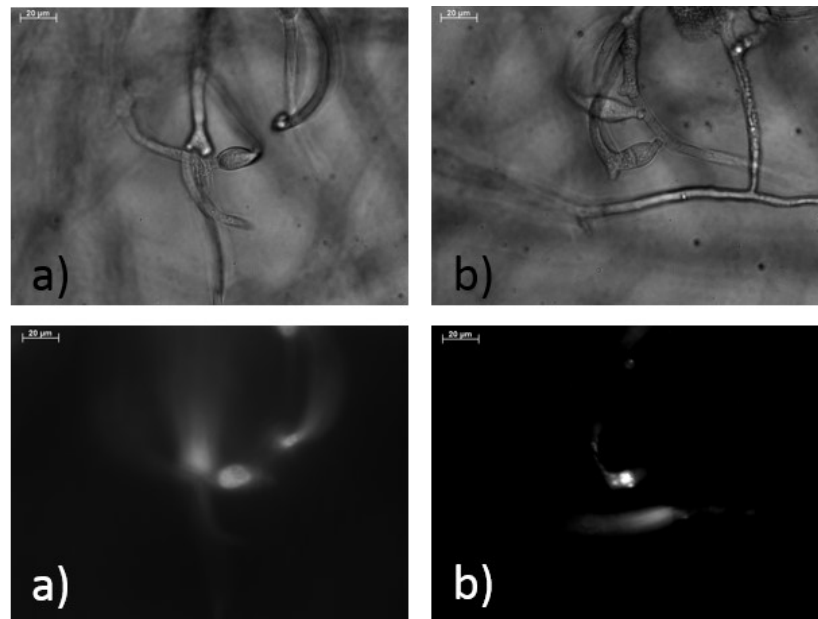
Die sexuellen Strukturen wurden zusätzlich mit Chlortetracyclin-Hydrochlorid (CTC) (Sigma-Aldrich) angefärbt, um freie intrazelluläre Calcium-Ionen sichtbar zu machen (Dixon et al., 1984). CTC ist ein Tetracyclin-Derivat, das als Ionophor für Calcium-Ionen fungiert. CTC bildet mit Calcium-Ionen einen Chelatkomplex und kann somit die Kationen durch Membranen transportieren.



**Abb. 50:** Färbung von intrazellulärem Calcium in sexuellen und parasitischen Interaktionen von *Absidia glauca* und *Parasitella parasitica* mit CTC und korrespondierende Lichtbilder. (Bilder: Hendrike Dürichen)

CTC wird nur über aktiven Transport in die Pilzhyphe aufgenommen (Dockter und Magnuson, 1975). Aus diesem Grund wurden 5 µl einer 500 µM CTC-Stammlösung unmittelbar auf den Kreuzungsbereich gegeben und 15 min bei Raumtemperatur inkubiert (modifiziert nach Engelmann et al., 1990). Auch hier fluoresziert lediglich eine die Gametangie eines einzigen Kreuzungstyps (Abb. 50).

Die sexuellen Strukturen von *Zygorhynchus moelleri* wurden ebenfalls mit CTC angefärbt. Hier fluoresziert wie bei den Heterothallischen eine Gametangie wesentlich stärker (Abb. 51).



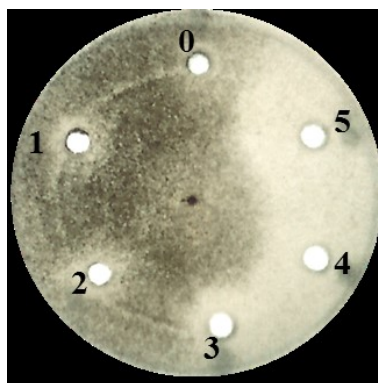
**Abb. 51: Färbung von intrazellulärem Calcium der sexuellen Strukturen von *Zygorhynchus moelleri* mit CTC und korrespondierende Lichtbilder.** (Bilder: in Zusammenarbeit Hendrike Dürichen)

Die Beobachtungen, dass bei Färbung der frühen Stadien in der sexuellen und parasexuellen Interaktion homo- und heterothallischer Mucorales mit FITC und CTC nur einer der beiden Kreuzungspartner/-hyphen fluoresziert, lassen den Schluss zu, dass sich im Verlauf der Entwicklung die fluoreszierenden Bereiche verändern und es zu einer Veränderung im Aufbau der Zellwand und vermutlich auch der Zellmembran zwischen beiden Kreuzungspartnern kommt.

#### 5.5.3.2 Transglutaminase-Aktivität und Hemmung

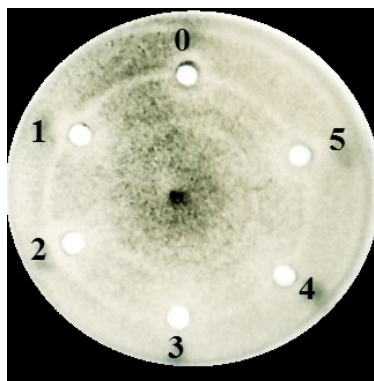
Die zuvor beschriebenen Veränderungen der Oberflächenproteine vor und nach der Fusion der Gametangien und die ebenso asymmetrische Verteilung der Calcium-Ionen, lassen auf eine kreuzungspartnerspezifische Transglutaminase-Aktivität schließen.

Einige Monoamine können diese post-translationale Peptid-Modifikation der Transglutaminasen als alternative Co-Substrate beeinflussen (Esposito und Caputo, 2005; Fesus und Piacentini, 2002; Griffin et al., 2002). Die Untersuchungen der Wirkung von Monoaminen auf das Wachstum von *Zygorhynchus moelleri* zeigten, dass Methylamin zu einer verringerten Zygosporienbildung führt (Abb. 52). Andere Monoamine, Propylamin und Hexylamin, zeigten keinen Effekt.



**Abb. 52:** Einfluss von Methylamin auf die Zygosporen-Bildung und das Wachstum von *Zygorhynchus moelleri*. 0: Wasser; 1: 10 mM; 2: 25 mM; 3: 50 mM; 4: 100 mM; 5: 200 mM). Pro Loch wurden 200 µl eingesetzt.

Auch die Wirkung von Cystamin ( $\beta$ -Mercaptoethanolamin (MEA) Disulfid) auf das Wachstum von *Zygorhynchus moelleri* wurde geprüft. Cystamin ist bekannt dafür, dass es kovalente Modifikationen am Cystein-Rest von Transglutaminasen verursacht (Siegel und Khosla, 2007). In der Zelle zu MEA reduziert, das als Substrat für die Transglutaminase agiert und diese somit hemmen kann (Jeitner et al., 2005).

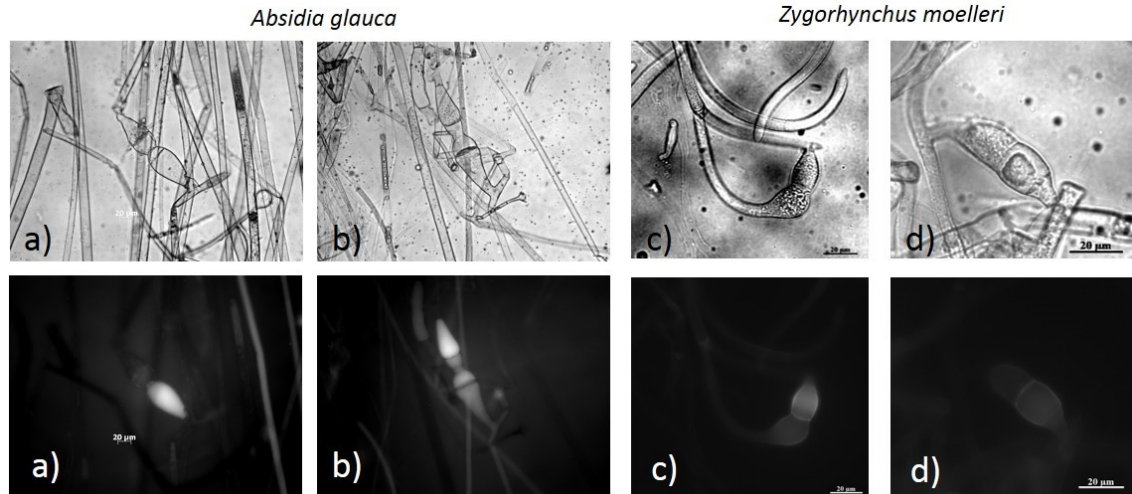


**Abb. 53:** Einfluss von Cystamin auf die Zygosporen-Bildung und das Wachstum von *Zygorhynchus moelleri*. 0: Wasser; 1: 1 mM; 2: 2,5 mM; 3: 5 mM; 4: 10 mM; 5: 20 mM. Pro Loch wurden 200 µl eingesetzt.

Die externe Zugabe von Cystamin führte zur Hemmung der Zygosporenbildung von *Zygorhynchus moelleri* (Abb. 53). Erhöht man die Konzentration von Cystamin auf 50 mM ist zusätzlich ein hemmender Effekt auf das Myzelwachstum zu erkennen.

Um zu untersuchen, ob Transglutaminasen eine direkte Rolle bei der sexuellen Entwicklung von Zygomyceten spielen, wurden die sexuellen Strukturen der heterothallischen *Absidia glauca* und des homothallischen *Zygorhynchus moelleri* mit 2,5 mM FITC-Cadaverin, einem spezifischen Farbstoff für die Aktivität der Transglutaminase, gefärbt (Lajemi et al., 1997).

Dabei fluoresziert ähnlich wie bei der Färbung mit FITC, bevorzugt eine der beiden Gametangien. Dasselbe Phänomen wurde auch bei *Zygorhynchus moelleri* beobachtet (Abb. 54). Die Färbung mit FITC-Cadaverin zeigt sowohl intra- als auch extrazelluläre Asymmetrien in den Gametangien beziehungsweise Progametangien (Abb. 54 c und d)



**Abb. 54: Färbung sexueller Strukturen von *Absidia glauca* und *Zygorhynchus moelleri* mit FITC-Cadaverin.** Es ist deutlich zu erkennen, dass ein Progametangium/ Gametangium stärker fluoresziert.

Die Reaktion von Fluorescein-Cadaverin mit den Zellwandbestandteilen kann durch die Zugabe von Cysteamin vermindert werden.

Dazu wurden 25 µl einer 5 mM Cystamin-Lösung unmittelbar auf den Kreuzungsbereich von *Absidia glauca* gegeben und 30 min inkubiert, um die aktive Aufnahme des Inhibitors zu ermöglichen. Danach wurde der Kreuzungsbereich präpariert und nach mehrfachem Waschen mit 2 % Triton X-100 in 2,5 mM FITC-Cadaverin über Nacht inkubiert. In Abb. 55 ist zu erkennen, dass die Gametangien beider Kreuzungspartner von *Absidia glauca* nicht mehr oder nur noch sehr schwach fluoreszieren.



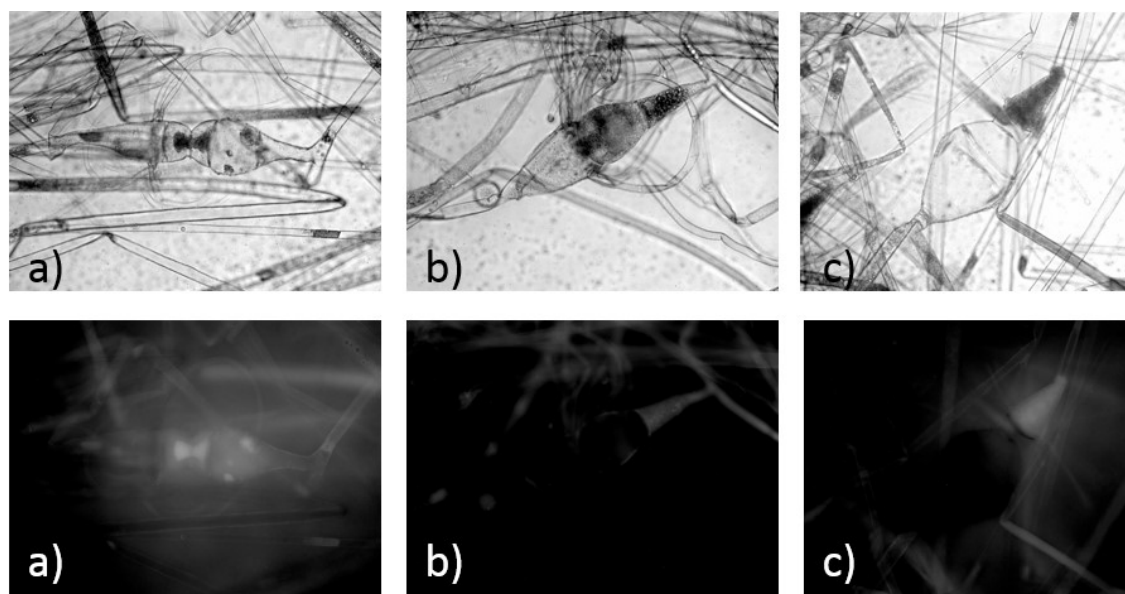


Abb. 55: Färbung der sexuellen Strukturen von *Absidia glauca* mit FITC-Cadaverin nach Inkubation mit dem Inhibitor Cystamin.

## 5.6 Der *sex*-Locus der Mucorales

Pilze können bezogen auf die sexuelle Entwicklung entweder homo- oder heterothallisch sein. In heterothallischen Pilzen erfolgt die sexuelle Kommunikation über Pheromone zwischen zwei genetisch unterschiedlichen, aber zueinander kompatiblen Individuen. Dabei unterscheiden sich diese beiden Partner selten morphologisch, während sie physiologisch durchaus variieren. Während der sexuellen Interaktion werden spezifische Pheromone gebildet und zusätzlich höchstwahrscheinlich spezifische Oberflächenmodifikationen vorgenommen, die zusammen dazu führen, dass nur zwei kompatible Kreuzungspartner miteinander interagieren.

Auf genetischer Ebene wird dies über die Kreuzungstyp-spezifische Expression individueller Proteine und die Kontrolle über Kreuzungstyp-spezifische Transkriptionsfaktoren erreicht. Diese Transkriptionsfaktoren werden einem Master Regulator zugeschrieben, der als *MAT*- oder *sex*-Locus bezeichnet wird.

Da Zygomyceten zu einer phylogenetisch alten Gruppe gehören, ist die Struktur der *sex*-Loci homothallischer und heterothallischer Spezies von großer Bedeutung, um die Evolution der sexuellen Entwicklung nachvollziehen zu können. Aus diesem Grund wurden in dieser Dissertation die *sex*-Loci aller, bis Dezember 2016, sequenzierten homothallischen und heterothallischen Mucor-artigen Zygomyceten verglichen.



Basierend auf der Genom-Sequenzierung des heterothallischen Zygomyceten *Phycomyces blakesleeanus* wurde Anfang des 21. Jahrhunderts der putative *sex*-Locus identifiziert (Idnurm et al., 2008). Der *sex*-Locus sowohl des (+)- als auch des (-)-Kreuzungstypes beinhaltet je einen offenen Leserahmen (open reading frame; ORF) der für einen Transkriptionsfaktor mit einer HMG-Domäne kodiert. Diese *sex*-Loci wurden nach ihrem Vorkommen im Genom des (+)- oder (-)-Kreuzungstypes als *sexP* und *sexM* bezeichnet und sind sich in ihrer Struktur sehr ähnlich. Daher nimmt man an, dass diese Loci Homologe sind (Idnurm et al., 2008).

Es folgten weitere Studien zur Identifikation der *sex*-Loci weiterer Mucorales (*Blakeslea trispora*, *Mucor circinelloides*, *Mucor mucedo*, *Rhizopus delemar*, *Rhizopus oryzae* und *Syzygites megalocarpus*) (Camino et al., 2015; Gryganskyi et al., 2010; Idnurm, 2011; Li et al., 2011; Wetzal et al., 2012).

Aufgrund weiterer Genomsequenzierungen der letzten Jahre ist die Identifikation der *sex*-Loci einer größeren Bandbreite an heterothallischen und homothallischen Mucorales möglich (Schulz, et al., 2016a), nämlich bei *Absidia glauca*, *Absidia padenii* syn. *Chlamydoabsidia padenii*, *Choanephora cucurbitarium*, *Absidia repens*, *Backusella circina*, *Blakeslea trispora*, *Gongronella butleri*, *Hesseltinella vesiculosa*, *Lichtheimia ramosa*, *Lichtheimia corymbifera*, *Lichtheimia hyalospora*, *Mucor ambiguus*, *Mucor cordense* syn. *Kirkomyces cordense*, *Mycotypha africana*, *Phascolomyces articulatus*, *Parasitella parasitica*, *Rhizopus microsporus*, *Syncephalastrum racemosum*, *Thamnidium elegans*, *Umbelopsis rammaniana*, *Zygorhynchus (Mucor) heterogamus* und *Zychaea mexicana*.

Die *sex*-Loci werden in Abb. 57 vergleichend und in phylogenetischer Hinsicht auf der Basis des Elongationsfaktors 1 $\alpha$  dargestellt (Alignment des Elongationsfaktors 1 $\alpha$  siehe Anhang Abb. 1). In Tabelle 11 sind die korrespondierenden Protein-Identifikationsnummern angegeben.

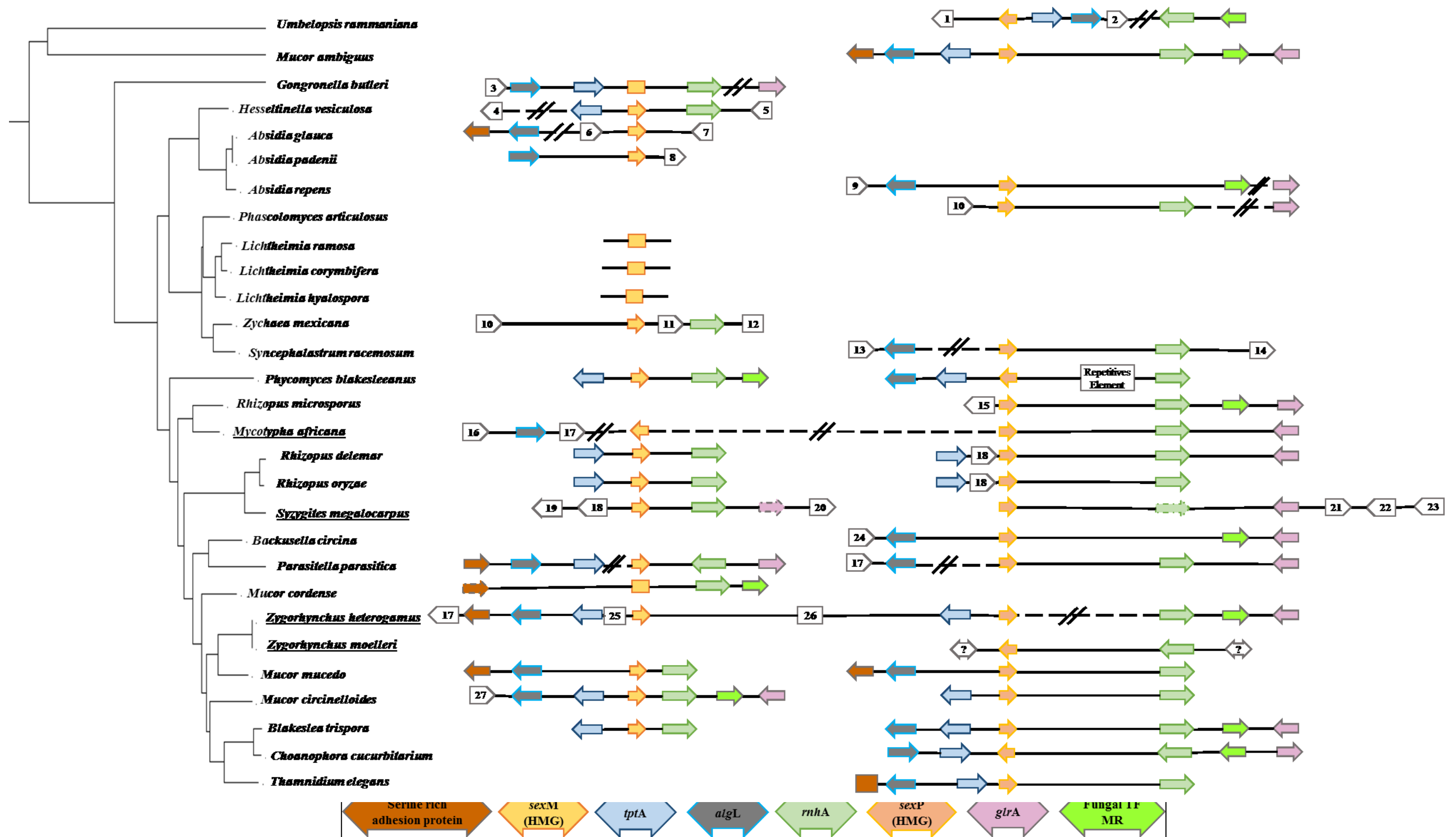






Abb. 56: Kreuzungstyp-Loci von homothallischen (unterstrichen) und heterothallischen **Mucorales**. Die phylogenetischen Beziehungen basieren auf den Elongationsfaktor 1 $\alpha$ . Die Proteinsequenzen von EF 1 $\alpha$  wurden mit ClustalW aligniert. Neighbour joining Analyse wurde mit EMBL-EBI (Kanz et al., 2005) und Fig. Tree (<http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>) durchgeführt. Die sex-Loci sind nicht skaliert dargestellt. Die Abkürzungen entsprechen der Tabelle 12. (modifiziert nach Schulz et al., 2016a).

**Tabelle 11: Die Protein-IDs der Gene der *sex*-Loci von hetero- und homothallischen *Mucorales*.**

					
Spezies			SexM	SexP	
Absgl	SAM01478.1	N/A	SAM01482.1	—	N/A
Absre *	416747	N/A	—	416748	427019
Abspa *	432385	462103	—	472800	355897
Bacci*	252631	N/A	—	188306	216737
Blatri	N/A	CDN67532.1	CDN67533.1	—	CDN67534.1
	N/A	CDN67529.1	—	CDN67530.1	CDN67531.1
Chocu	—	OBZ89251.1	—	OBZ89248.1	OBZ89249.1
Gonbut*	325043	325042	217502	—	292358
Hesve*	N/A	1338442	1338441	—	1338440
Licco*	N/A	N/A	12200	—	N/A
Lichy*	N/A	N/A	126746	—	N/A
Licra	N/A	N/A	CDS03202.1	—	N/A
Mucam	GAN10456.1	GAN10457.1	—	GAN10458.1	GAN10459.1
Mucci	111720	145196	153347	—	143979
	N/A	ACH92694.1	—	ACH92695.1	ACH92696.1
Kircor*	334211	—	241733	—	367322
Mumu	AFA26126.1	N/A	—	AFA26127.1	AFA26128.1
	AFA26122.1	N/A	AFA26123.1	—	AFA26124.1
Mycafr*	874581	N/A	875166	787907	875170
Parpa	CEP16805.1	CEP13952.1	—	CEP16807.1	CEP16808.1
	334364	N/A	scaffold_1:416 734-416952 v1.0	—	378134
			Projekt KY081664	—	Projekt KY081664
Phaar*	N/A	N/A	—	591217	591217
Phybl	N/A	ABX27908.1, 184619	ABX27909.1, 154054	—	ABX27910.1 , 87354
	N/A	ABX27911.1	—	ABX27914.1	ABX27913.1
Rhide	N/A	ADU02297.1	ADU02298.1	—	ADU02299.1
	N/A	ADU02233.1	—	ADT91596.1	ADT91541.1
Rhimi*	N/A	N/A	—	185490	274003
Rhior	N/A	ADU04730.1	—	ADU04732.1	ADU04733.1
	N/A	ADU02300.1	ADU02301.1	—	ADU02302.1
Synrac*	403646	N/A	—	scaffold_4:17555 03-1756103 v1.0	490416
Syzme	N/A	N/A	AET35422.1	AET35419.1	AET35417.1
Thaele*	57539	57534	—	464294	494671
Umbra*	216688	216682	—	216679	217738
Zycmex*	N/A	N/A	929090	—	883171
Zygmo	N/A	N/A	N/A	APW79505.1	APW79504.1
Zyghet*	453571, 548517	63523, 349569	409715	347961	453553

**Tabelle 12: Legende der in Abb. 57 verwendeten Abkürzungen für Proteine und deren konservierten Protein-Domänen.** (modifiziert nach Schulz et al., 2016a)

Nr.	Gene/ Protein	Vermeintliche Funktion	Konservierte Protein-Domäne
1	Hyp. Protein	N/A	pfam09435
2	Hyp. Protein	SAM Decarboxylase Aktivität	pfam10293
3	Chinon Oxidoreductase, putativ	N/A	cd08241, COG0604, TIGR02824, smart00829, PRK13771
4	Hyp. Protein	Galactose Oxidase, partial	N/A
5	Hyp. Protein	seryl-tRNA Synthetase	N/A
6	DNA-Transposon	Helitron Helicase-ähnliches Protein; ATP-abhängige Helicase	pfam14214, pfam05970
7	Hyp. Protein	Myb-like DNA-Binde Domänenprotein	cd00167, pfam00249, pfam13921
8	mitochondriales Carrierprotein, putativ	N/A	pfam00153, pfam07798, pfam00153
9	Proteinkinase, putativ	CMGC/CLK Proteinkinase, partial	cd14134, PTZ00284
10	Kinesin-Domänen Protein, putativ	N/A	cd01376, cd00106, smart00129, COG5059, pfam00225, PLN03188, cd01365
11	Phosphoglyceratmutase, putativ	N/A	N/A
12	Retrotransposon, Nukleokapsid Protein, putativ	N/A	cd01647, pfam10551
13	Hyp. Protein	Proteinkinase	pfam00069, cd14663
14	Hyp. Protein	Zinc peptidase like superfamily Protein	PRK08201, TIGR01910
15	Hyp. Protein	vacuolar protein sorting-associated protein 27	cd03569, pfam00790
16	Hyp. Protein	rve Superfamily, DDE superfamily Endonuclease	pfam13358
17	ATP-binding cassette Domänenprotein	ABC Transporter	cd03250, pfam00005
18	<i>arbA</i>	predicted multi-Domänen Protein; Ankyrin, RCC1 und BTB/POZ	pfam13637, pfam13540, pfam00651, pfam00023

19	<i>mrsB</i>	Magnesium Transporter in der inneren Mitochondrienmembran	cd12823, pfam01544, COG0598
20	<i>mcmV</i>	Komponente des MCM Komplexes zur Replikationskontrolle	pfam14551, COG1241, smart00350
21	SspA	Subtilisin-ähnliche Serineprotease	cd07489, cd00538, pfam06280, pfam02225, pfam00082
22	<i>alyA</i>	$\alpha$ -Arrestin	smart01017, pfam00339
23	<i>romA</i>	GDP/GTP Austauschfaktor für Rho Proteine	pfam00780, smart00036, COG5422
24	Hyp. Protein	Glucose Transporter, partial	TIGR00879, pfam00083, PRK10077
25	Hyp. Protein	reverse Transcriptase-Domäne	cd03714; cd09275; pfam00078; TIGR04416
26	Histone H3 putativ, partial	N/A	PLN00121, pfam00125
27	Hyp. Protein	Oxysterol-binde Protein	cd03429, pfam00293

### 5.6.1 Der *sex*-Locus der heterothallischen Mucorales

In den bis Dezember 2016 sequenzierten Spezies wurden HMG-Domänen-kodierende Gene gefunden, die in ihrer Sequenz entweder *sexM* oder *sexP* von *Phycomyces blakesleeana* ähneln (NCBI Blast). Sowohl *sexM* als auch *sexP* sind in den meisten Fällen von hoch konservierten Genen für eine RNA Helicase (*rnhA*; konservierte Domänen: TIGR00376, COG1112 cd06008 pfam13086, pfam13087), für eine Alginatlyase (*algL*; konservierte Domäne: pfam05426), und für einen Triose-Phosphate Transporter (*tptA*; konservierte Domänen: pfam03151) umgeben (Gryganskyi et al., 2010; Idnurm et al., 2008; S. C. Lee et al., 2008; Wetzl et al., 2012).

Für einige Spezies muss bezüglich der Syntanie eine Ausnahme gemacht werden. Bei den Lichtheimiaceae befindet sich der beschriebene Gen-Cluster, *rnhA*, *algL* und *tptA*, auf einem anderen Chromosom als dem üblichen, weist jedoch dort wieder die gewohnte Syntanie auf. Im Falle der verwandten Spezies *Absidia glauca*, *Absidia padenii* und *Absidia repens* ist die Syntanie auf etwas andere Weise gebrochen. Das *rnhA*-Gen liegt hier auf einem anderen Scaffold als *sexM/sexP* und *algL*, welche nacheinander geschaltet sind. Statt der RNA Helicase enthält *Absidia glauca* eine putative DNA Helicase

(pfam14214, pfam05970). Der *sex*-Locus des auf der Basis des Elongationsfaktors 1 $\alpha$  mit den Absidiaceae verwandten *Phascolomyces articulatus* weist insofern Unterschiede auf, als hier *rnhA* und *sexP* nebeneinanderliegen. Die Gene *tptA* und *algL* befinden sich nicht in unmittelbarer Nähe des *sexP*-Locus. Der ebenfalls nahe Verwandte, *Zychoaea mexicana*, hat einen ähnlichen *sexM*-Locus. Auch bei *Mucor cordense* befindet sich ein Teil der für die *sex*-Locus-Syntanie maßgeblichen Gene, *tptA* und *algL*, nicht am *sexM*-Locus. Das Gen für die putative RNA Helicase ist dagegen neben *sexM* lokalisiert.

In *Absidia repens* gibt es weder ein Gen für eine RNA Helicase noch für eine DNA-Helicase in der Nähe des *sexP*-Gens. In *Backusella circina* ist *rnhA* ebenfalls auf einem anderen Scaffold lokalisiert als der *sexP*-Locus.

Am *sexP*-Locus der Gattung *Rhizopus* wurden zusätzliche Gene, die für Proteine der BTB/POZ Familie (Broad-Komplex, Tramtrack und Bric-a-brac/Poxvirus; Zinkfinger) und für Proteine mit einer Ankyrin Domäne (ArbA) kodieren, identifiziert werden (Gryganskyi et al., 2010; Lee et al., 2010). BTB Proteine sind oft für die Regulation von Genen auf den Ebenen der Protein-Degradierung, der Transkription, und der Umstrukturierung von Chromatin zuständig (Chaharbakhshi und Jemc, 2016).

Einige Spezies, nämlich *Absidia glauca*, *Mucor ambiguus*, *Mucor mucedo*, *Parasitella parasitica*, *Thamnidium elegans* und der homothallische *Zygorhynchus heterogamus*, tragen ein Gen für ein putatives Serin-reiches Adhäsionsprotein nahe des *sex*-Locus, das in einigen Fällen nur partiell vorhanden ist und dessen Funktion bezüglich der sexuellen Entwicklung von Zygomyceten bis heute nicht bekannt ist.

In weiterer Entfernung, neben dem *rnhA*-Gen, liegt ein für einen pilzspezifischen Transkriptionsfaktor kodierendes Gen (*sagA*; Fungal TF MR), das eine pfam04082 bzw. eine cd12148 Domäne beinhaltet. Da die Funktion dieses Transkriptionsfaktors bisher nicht untersucht wurde, kann man keine Aussage über dessen funktionelle oder kausative Verbindung zur sexuellen Entwicklung treffen (Idnurm, 2011).

Der sequenzierte Stamm von *Gongronella butleri* CBS 227.36 wurde als (+)-Kreuzungstyp identifiziert (Peyronel und Dal Vesco, 1955 zitiert aus <http://genome.jgi.doe.gov/Gonbut1/Gonbut1.home.html>). Die Analyse des Kreuzungstyp-Locus ergab jedoch eine 46-%ige Ähnlichkeit des HMG-beinhaltenen Transkriptionsfaktors zum korrespondierenden SexM-Protein von *Absidia glauca* (SAM01482.1). Diese Beobachtung deckt sich damit, dass der mit CBS 227.36 identische

Stamm FSU 266 (fälschlicherweise in der zitierten Dissertation als homothallisch deklariert) von *Parasitella parasitica* ATCC 11077 (–) parasitiert werden kann und der Trisporoidextrakt das für 4-Dihydromethyltrisporat typische Spektrum mit Maxima bei 272, 282 und 293 nm zeigt (Saleem, 2003).

Am *sex*-Locus von *Umbelopsis rammaniana* sind zwar alle üblicherweise syntänisch vorkommenden Gene vorhanden, jedoch in anderer Reihenfolge: *sexP*, *tptA*, *algL*, *rnhA*. Dieses Phänomen tritt bei allen analysierten Mucorales ausschließlich hier auf.

### 5.6.2 Der *sex*-Locus der homothallischen Mucorales

*Syzygites megalocarpus* war der erste homothallische Zygomycet, für den der generelle morphologische Ablauf der sexuellen Entwicklung beschrieben (Ehrenberg, 1829) und später der *sex*-Locus identifiziert wurde (Idnurm, 2011).

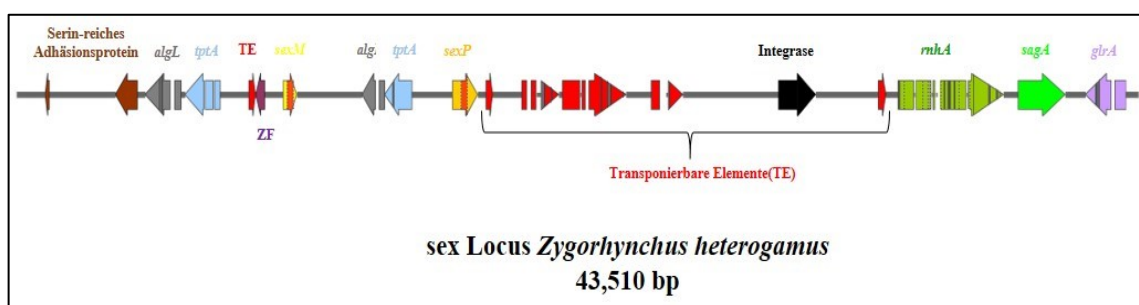
Die Genome zweier weiterer homothallischer Spezies, *Mycotypha africana* und *Zygorhynchus heterogamus*, wurden im letzten Jahr vollständig sequenziert (Grigoriev et al., 2014).

In allen drei Pilzen findet man sowohl *sexM* als auch *sexP* in ihrer kompletten und vermutlich funktionalen Struktur. Dies spricht dafür, dass beide *sex*-Allele für die sexuelle Interaktion in Mucorales notwendig sind (Schulz et al., 2016a).

Die *sex*-Loci der homothallischen Spezies weisen ebenfalls die oben beschriebene Syntänie (*tptA*, *algL*, HMG Domänen Protein und *rnhA*) auf. Dabei unterscheidet sich *Syzygites megalocarpus* in der Hinsicht von *Zygorhynchus heterogamus* und *Mycotypha africana* insofern, als hier *sexM* und *sexP* auf unterschiedlichen Chromosomen liegen. Die beschriebene Syntänie findet man also zweimal im Genom von *Syzygites megalocarpus*. In *Zygorhynchus heterogamus* liegen beide *sex*-Gene auf demselben Scaffold und sind ca. 5,3 kb voneinander entfernt (Abb. 57), während in *Mycotypha africana* *sexM* und *sexP* etwa 150 kb auseinanderliegen (Schulz, Wetzel, et al., 2016). *Syzygites megalocarpus* trägt zwei *rnhA* Gene, die entweder im Scaffold des *sexP* Locus oder des *sexM*-Locus lokalisiert sind. Das mit *sexP* assoziierte *rnhA*-Gen ist aufgrund einiger Mutationen wie Inversionen und Deletionen (1,4 kb) ein Pseudogen (Idnurm, 2011).

*Mycotypha africana* und *Zygorhynchus heterogamus* haben an ihrem *sex*-Locus jeweils nur ein *rnhA* Gen, das aufgrund von Sequenzvergleichen höchstwahrscheinlich in seiner transkriptionell-aktiven Form vorliegt.

Interessanterweise ist *sexM* in *Zygorhynchus heterogamus* von zwei Kopien der Gene *tptA* und *algL* umgeben (Abb. 57). Die *tptA*-Kopien weisen die höchste Ähnlichkeit zum korrespondierenden Protein von *Mucor circinelloides* f. *circinelloides* 1006PHL (69% und 81%) und ähnelt generell dem für den *sexP*-Locus typischen *tptA* Gen.



**Abb. 57: Sex-Locus des homothallischen Zygomyceten *Zygorhynchus heterogamus*.** Gezeigt werden die HMG-Domänen (dunkelorange) kodierenden Gene *sexM* (gelb) und *sexP* (orange), die konservierten syntänisch angeordneten Gene (*algL*: grau, *rnhA*: olivgrün, *tptA*: blau, und Serin-reiches Adhäsionsprotein: braun), sowie die umgebenden Transponierbaren Elemente (TE) (rot oder schwarz). Der einem CCHC-Typ Zink Finger ähnliche Transkriptionsfaktor (ZF) ist dunkellila dargestellt. Die Genkarte wurde mit der SnapGene® Software (von GSL Biotech; erhältlich auf [snapgene.com](http://snapgene.com)) kreiert und von Hand annotiert. (modifiziert nach Schulz et al., 2016a)



	10	20	30	40	50
tptA1 (63523)	CATGTCCTGCT	ACCAAGATCA	GTTCTCGAGA	TGGAGCACGG	TCGATTGTGG
tptA2 (349569)	--T---GCT	ACCAAGATCA	GTTCTCGAGA	TGGAGCACGG	TCGATTGTGG
Consensus	CATGTCCTGCT	ACCAAGATCA	GTTCTCGAGA	TGGAGCACGG	TCGATTGTGG
	60	70	80	90	100
tptA1 (63523)	AAGATTATGC	AACATATCCC	GACATCAACA	ATGCACCAAA	ATTAAGACAT
tptA2 (349569)	AAGATTATGC	AACATATCCC	GACGTCAACA	ATGCACCAAA	ATTAAGACGT
Consensus	AAGATTATGC	AACATATCCC	GACRTCAACA	ATGCACCAAA	ATTAAGACRT
	110	120	130	140	150
tptA1 (63523)	CAGCTGACAG	ATGATGGACT	TTTAAGCTCG	CCGAATCAAC	CTTGGGTGAA
tptA2 (349569)	CAGCTGACAG	ATGATGGACT	TTTAAGCTCG	CCGAGTCAAC	CTTGGGTGAA
Consensus	CAGCTGACAG	ATGATGGACT	TTTAAGCTCG	CCGARTCAAC	CTTGGGTGAA
	160	170	180	190	200
tptA1 (63523)	TGATAACAAC	TCACAATATA	GAGGGTCGTT	TGGTACAGTT	AGAACGTTTT
tptA2 (349569)	TGATAACAAC	TCACAATATA	GAGGGTCGTT	TGGTACAGTT	AGAACGTTTT
Consensus	TGATAACAAC	TCACAATATA	GAGGGTCGTT	TGGTACAGTT	AGAACGTTTT
	210	220	230	240	250
tptA1 (63523)	CTACGACGGG	AACACAGAAG	AGAACACCTC	AGTCAATGAA	TGGAGGAATA
tptA2 (349569)	CTACGACGGG	AACGCAGACG	AGAACACCTC	AATCACTGAA	TGGAGGAATA
Consensus	CTACGACGGG	AACRCAGAMG	AGAACACCTC	ARTCAMTGAA	TGGAGGAATA
	260	270	280	290	300
tptA1 (63523)	-TTTCGTTTT	TAAA-GGGAC	GACAGAAAAT	GATCTATCAA	CACGCCATGT
tptA2 (349569)	CTTTCGTTTT	TAAATGGGAC	AGCAGAAAAT	GATCTATCAA	CACGCCATGT
Consensus	CTTTCGTTTT	TAAATGGGAC	RRCAGAAAAT	GATCTATCAA	CACGCCATGT
	310	320	330	340	350
tptA1 (63523)	AGATAATAGT	TATGATGAAG	ATGGAGGAAG	AGTTAAAGAT	ATGATATGGA
tptA2 (349569)	AGATAATAGT	TATGATGAAG	ATGGAGGAAG	AGTTAAAGAT	ATGATATGGA
Consensus	AGATAATAGT	TATGATGAAG	ATGGAGGAAG	AGTTAAAGAT	ATGATATGGA
	360	370	380	390	400
tptA1 (63523)	GTTTGATACC	TGGTAGTCAA	CATTTTGTAT	TATCAGATAA	TCTCAAGTTT
tptA2 (349569)	GTTTGATACC	TGGTAGTCAA	CATTTTGTAT	TATCAGATAA	TCTCAAGTTT
Consensus	GTTTGATACC	TGGTAGTCAA	CATTTTGTAT	TATCAGATAA	TCTCAAGTTT
	410	420	430	440	450
tptA1 (63523)	ATACTTAATT	GTTGTATGTG	GTATATATCA	TCATCACTTA	CAAACAATAT
tptA2 (349569)	ATACTTAATT	GTTGTATGTG	GTATATATCA	TCATCACTTA	CAAACAATAT
Consensus	ATACTTAATT	GTTGTATGTG	GTATATATCA	TCATCACTTA	CAAACAATAT
	460	470	480	490	500
tptA1 (63523)	TGGTAAATCG	ATTATGAATG	CTTTTCGATT	TCCAGTTACA	CTCACGTTTG
tptA2 (349569)	TGGTAAATCG	ATTATGAATG	CTTTTCGATT	TCCAGTTACA	CTCACGTTTG
Consensus	TGGTAAATCG	ATTATGAATG	CTTTTCGATT	TCCAGTTACA	CTCACGTTTG
	510	520	530	540	550
tptA1 (63523)	TTCAATTTGG	TCTTGTTGCT	TTTTGGTGTT	ATCTTGTTTC	TGCTGTTTTT
tptA2 (349569)	TTCAATTTGG	TCTTGTTGCT	TTTTGGTGTT	ATCTTGTTTC	TGCTGTTTTT
Consensus	TTCAATTTGG	TCTTGTTGCT	TTTTGGTGTT	ATCTTGTTTC	TGCTGTTTTT
	560	570	580	590	600
tptA1 (63523)	AAAACCTACAC	ATATTAGAGC	ACCTACACAT	GATAT-TTAA	AGACAATTAC
tptA2 (349569)	AAAACCTACAC	ATATTAGATC	ACCTACACAT	GATATCTTGA	AGACAATTAC
Consensus	AAAACCTACAC	ATATTAGAKC	ACCTACACAT	GATATCTTRA	AGACAATTAC
	610	620	630	640	650
tptA1 (63523)	ACCATTAGCA	GTATTTTT-A	TTGTTGGTCA	TGTATTTTCA	AGTGTAGCTA
tptA2 (349569)	ACCATTAGCA	GTATTTTTGA	TTGTTGGTCA	TGTATTTTCA	AGTGTAGCTA
Consensus	ACCATTAGCA	GTATTTTTGA	TTGTTGGTCA	TGTATTTTCA	AGTGTAGCTA
	660	670	680	690	700
tptA1 (63523)	TTAGTAGAGT	ACCTGTTAGT	TTGGTACATA	CAAT-AAGGt	--aaaaaaa
tptA2 (349569)	TTAGTAGAGT	ACCTGTTAGT	TTGGTACATA	CAATCAAGGt	aaaaaaaaa
Consensus	TTAGTAGAGT	ACCTGTTAGT	TTGGTACATA	CAATCAAGGT	AAAAAAAAA

# Ergebnisse und Auswertung

	710	720	730	740	750
tptA1 (63523)	aaaaaaatga	ttgttttgatt	gtatatatta	atataaaaaat	aattaGGCTT
tptA2 (349569)	aaaaaaatga	ttgttttgatt	gtatatatta	atataaaaaat	aattaGGCTT
Consensus	AAAAAAATGA	TTGTTTGATT	GTATATATTA	ATATAAAAAAT	AATTAGGCTT
	760	770	780	790	800
tptA1 (63523)	TAGCGCCATT	GTTTACAGTA	CTATTCTATC	GATTTATATT	TCAAGTACGA
tptA2 (349569)	TAGCGCCATT	GTTTACAGTG	CTATTCTATC	GATTTATATT	TCAAGTTGGA
Consensus	TAGCGCCATT	GTTTACAGTR	CTATTCTATC	GATTTATATT	TCAAGTWSGA
	810	820	830	840	850
tptA1 (63523)	TATACACAAA	GAGT-TATAT	TTCATTATTA	CCATTGACAC	TTGGAGTTAT
tptA2 (349569)	TATACACAAA	GAGTATATAT	TTCATTATTA	CCATTAACAC	TTGGAGTTAT
Consensus	TATACACAAA	GAGTATATAT	TTCATTATTA	CCATTRACAC	TTGGAGTTAT
	860	870	880	890	900
tptA1 (63523)	ACTTGCATGT	TCATTACAT	ATTCAAATAA	TATTGTTGGA	TTATCTTGTG
tptA2 (349569)	ACTTGCATGT	TCATTACAT	ATTCAAATAA	TATTGTTGGA	TTATCTTGTG
Consensus	ACTTGCATGT	TCATTACAT	ATTCAAATAA	TATTGTTGGA	TTATCTTGTG
	910	920	930	940	950
tptA1 (63523)	CTTTAGGATC	TTGCTTTATC	TTTGTTACCC	AAAATATATT	CAGCAAGAAA
tptA2 (349569)	CTTTAGGATC	TTGCTTTATC	TTTGTTACCC	AAAATATATT	CAGCAAGAAA
Consensus	CTTTAGGATC	TTGCTTTATC	TTTGTTACCC	AAAATATATT	CAGCAAGAAA
	960	970	980	990	1000
tptA1 (63523)	CTTTTATTTA	AAGAATCTAA	ACTAGGTGAT	CGGAATCCCA	ACAAATTGGA
tptA2 (349569)	CTTTTATTTA	AAGAA--T--	-C-----T	----A----A	AC-----
Consensus	CTTTTATTTA	AAGAATCTAA	ACTAGGTGAT	CGGAATCCCA	ACAAATTGGA
	1010	1020	1030	1040	1050
tptA1 (63523)	TAAATTGAAT	GTATTATTCT	ATTCATCTTG	TTTATCATTT	TTACTTATGA
tptA2 (349569)	-----T--A-	G-----T--	-----G-----	-----TGA	
Consensus	TAAATTGAAT	GTATTATTCT	ATTCATCTTG	TTTATCATTT	TTACTTATGA
	1060	1070	1080	1090	1100
tptA1 (63523)	TACCTTTATG	GATTTATTAT	GATGGAATTG	GATTAATGAA	TATGGAAGAA
tptA2 (349569)	T--C-----				
Consensus	TACCTTTATG	GATTTATTAT	GATGGAATTG	GATTAATGAA	TATGGAAGAA
	1110	1120	1130	1140	1150
tptA1 (63523)	GGAGATTTAT	CAACATCAAG	ACTAATCATT	TATTTCTTAT	TAAATGGTAC
tptA2 (349569)	---G-----	-----G-----	---AATC---	-----C-----	-----C
Consensus	GGAGATTTAT	CAACATCAAG	ACTAATCATT	TATTTCTTAT	TAAATGGTAC
	1160	1170	1180	1190	1200
tptA1 (63523)	AATGAACTTT	TCTCAAAATT	GGTTTGCTTT	TACAACACTC	AGTTTAACTT
tptA2 (349569)	---AA-----	---C-AAATT	-G---G---	-----A-T-	A---AA--T
Consensus	AATGAACTTT	TCTCAAAATT	GGTTTGCTTT	TACAACACTC	AGTTTAACTT
	1210	1220	1230	1240	1250
tptA1 (63523)	CACCTGTTAC	ATATTCAATT	TTATCACTTT	TAAAAAGAAT	ATTGTGCATT
tptA2 (349569)	---TG-----	---A---A---	---A---A---	T-----G---T	A--T-T-A--
Consensus	CACCTGTTAC	ATATTCAATT	TTATCACTTT	TAAAAAGAAT	ATTGTGCATT
	1260	1270	1280	1290	1300
tptA1 (63523)	GTGATGAGCA	TTGTATGGTT	TGGACAACAA	ATATCTGGAC	ACAATCAATG
tptA2 (349569)	-T--T---C-	---TA---T	T-----C--	--A--T----	-C--T---T-
Consensus	GTGATGAGCA	TTGTATGGTT	TGGACAACAA	ATATCTGGAC	ACAATCAATG
	1310	1320	1330	1340	1350
tptA1 (63523)	GGTATATTAT	TAACCTTTTAT	TGGATTATGG	ATGTATCAAA	AAGCAAAATC
tptA2 (349569)	-G--T-TTA-	T--C-----	-----AT--	-T-T-T-----	-----T-
Consensus	GGTATATTAT	TAACCTTTTAT	TGGATTATGG	ATGTATCAAA	AAGCAAAATC
	1360	1370	1380		
tptA1 (63523)	AGATGTCGAT	AAAGGTGAAA	CTAAAATTAG	GAAAACCTCA	
tptA2 (349569)	--A---C---	-----T----	-T---A-T--	G---A-T--	
Consensus	AGATGTCGAT	AAAGGTGAAA	CTAAAATTAG	GAAAACCTCA	

Abb. 58: Alignment und Consensus-Sequenz der *tpt4* Gene (Protein IDs 63523 und 349569) von *Zygorhynchus heterogamus*. (modifiziert nach Schulz et al., 2016a)

	10	20	30	40	50
algL1 (453571)	ATGGAAAAAG	AAATCCAGGT	AAATAACAAG	TATGAAGAAA	AACTGTTGTC
algL2 (548517)	A-----	-----	-----	-----	-----
Consensus	ATGGAAAAAG	AAATCCAGGT	AAATAACAAG	TATGAAGAAA	AACTGTTGTC
	..... ..... ..... ..... ..... .....				
	60	70	80	90	100
algL1 (453571)	ATTAAACGAT	ATTCCCTATAG	ATATAGGATG	TGTTAAGGAT	CAGTTTCAAT
algL2 (548517)	-----A-	A-TCC-----	-----	-----AT	--GTTTCAAT
Consensus	ATTAAACGAT	ATTCCCTATAG	ATATAGGATG	TGTTAAGGAT	CAGTTTCAAT
	..... ..... ..... ..... ..... .....				
	110	120	130	140	150
algL1 (453571)	TAGAATCTTT	AGCAGAGAAT	CTTACATATT	TATGCTTGGG	ATATTACTTC
algL2 (548517)	TAGAATCTGT	AGCAGAGAAT	CTTACATATT	TATGCTTGGG	ATATTACTTC
Consensus	TAGAATCTKT	AGCAGAGAAT	CTTACATATT	TATGCTTGGG	ATATTACTTC
	..... ..... ..... ..... ..... .....				
	160	170	180	190	200
algL1 (453571)	TTTAATAATG	AAAATTATGC	TATTCATGTA	GTCTCTTTAT	TAGATACATT
algL2 (548517)	TTTAATAATG	AAAATTATGC	TATTCATGTA	GTCTCTTTAT	TAGATACATT
Consensus	TTTAATAATG	AAAATTATGC	TATTCATGTA	GTCTCTTTAT	TAGATACATT
	..... ..... ..... ..... ..... .....				
	210	220	230	240	250
algL1 (453571)	TTTCTTGAAT	GAAAAAACGC	GTATGAACCC	TGATCTTAAT	TATGCTCAAT
algL2 (548517)	TTTCTTGAAT	GAAAAAGACGC	ATATGAATCC	CAATTTGAAT	TATGCTCAAT
Consensus	TTTCTTGAAT	GAAAAACGC	RTATGAAYCC	YRATYTKAAT	TATGCTCAAT
	..... ..... ..... ..... ..... .....				
	260	270	280	290	300
algL1 (453571)	TGGTTAGAGG	ATCACAGAAT	ACAACAAAAA	TGGGTAGAGG	TGAAGGTGTT
algL2 (548517)	CAGTTAGAGG	ATCACAAAAA	ACAACAAAAA	TGGGTCGAGG	AGAAGGTGTT
Consensus	YRGTTAGAGG	ATCACARAAT	ACAACAAAAA	TGGGTMGAGG	WGAAGGTGTT
	..... ..... ..... ..... ..... .....				
	310	320	330	340	350
algL1 (453571)	ATAAGCTCTA	GAGTGTAAAT	Gtattattat	attagttaaa	ttaaa---aa
algL2 (548517)	ATTAGTTCTA	GAGTGTAA-T	-AATGA--AT	ATTAGTTAAA	TAAAATTTAA
Consensus	ATWAGYTCTA	GAGTGTAAAT	GWATKATTAT	ATTAGTTAAA	TWAAATTTAA
	..... ..... ..... ..... ..... .....				
	360	370	380	390	400
algL1 (453571)	attaCTAACA	TTGTTA--TG	TAGTTTATCC	CGTATAGTAA	ATTTATTACC
algL2 (548517)	CTTATTGTAA	TTGTTATTTG	TAGTTTTTCC	CGTATTGCAA	ATTTATTACC
Consensus	MTTAYTRWMA	TTGTTATTTG	TAGTTTWTC	CGTATWGYYA	ATTTATTACC
	..... ..... ..... ..... ..... .....				
	410	420	430	440	450
algL1 (453571)	TCTTTTAGAT	GCATTCCACG	GTTATTATGC	ATTAAAGCAA	TATATGCAAC
algL2 (548517)	TCTTTTAGAT	GCATTCCATG	CTTATTATGC	ATTAAAGCAA	TATATACAAC
Consensus	TCTTTTAGAT	GCATTCCAYG	STTATTATGC	ATTAAAGCAA	TATATRCAAC
	..... ..... ..... ..... ..... .....				
	460	470	480	490	500
algL1 (453571)	TGTGGTTCAG	ATCTTACCTT	AATTGGCTTC	AACATAGTCC	TGTTGCTTTA
algL2 (548517)	TGTGGTTCGG	ATCTTACCTT	AATT-G----	-----GTCC	CATTGCTTTA
Consensus	TGTGGTTCRG	ATCTTACCTT	AATTGGCTTC	AACATAGTCC	YRTTGCTTTA
	..... ..... ..... ..... ..... .....				
	510	520	530	540	550
algL1 (453571)	GAAGCATTCA	AA-TCAAAAA	ATAACATTCA	TACATGGTAT	ATAGTTCAAC
algL2 (548517)	GAAGC-TGCA	AATTCAAAAA	ATAACATTTA	TACTTGGTAT	ATAGTTCAAC
Consensus	GAAGCATKCA	AATTCAAAAA	ATAACATTYA	TACWTGGTAT	ATAGTTCAAC

	560	570	580	590	600
algL1 (453571)	TTGCTTCAAT	TGTTCAATTT	TTAAATCCGG	TTTCTCTCTCA	AGCATCAAAC
algL2 (548517)	TTGCCTCAAT	TGACCATTAT	TTAAATCCGG	TCTCTCTCTCA	AGCATCAAAC
Consensus	TTGCTTCAAT	TGWYCAWTWT	TTAAATCCGG	TYTCTCTCTCA	AGCATCAAAC
	610	620	630	640	650
algL1 (453571)	CTTATTATTG	ACTTTTTTTAA	ATATAATTTA	CCAAAGCAAA	TTGACAGCAA
algL2 (548517)	CTTATTATCG	ATTTTTTTTAA	AATTCATTTA	CCAAAGCAAA	TTGACATCAA
Consensus	CTTATTATYG	AYTTTTTTTAA	AWWTMATTTA	CCAAAGCAAA	TTGACAKCAA
	660	670	680	690	700
algL1 (453571)	AACCGGAAAT	CAGCCACTAG	AATCTAAACG	TGCAAACCCT	TTTCATTATT
algL2 (548517)	AACAGGAAAT	CAGCCACTAG	AATCTAAGTG	TGCAAACCCT	TTTCATTATT
Consensus	AACMGAAAT	CAGCCACTAG	AATCTAARYG	TGCAAACCCT	TTTCATTATT
	710	720	730	740	750
algL1 (453571)	TAGCTTTTAA	TATGCAAGCA	ATCGTTTTTC	TCGCTGAACT	TGCAAAAGAT
algL2 (548517)	TGGCTTTCAA	TATGCAGGCA	ATCGCCTTTC	TTGCTGAACT	TGCCAAAGAT
Consensus	TRGCTTTYAA	TATGCARGCA	ATCGYTTTTC	TYGCTGAACT	TGCMAAAGAT
	760	770	780	790	800
algL1 (453571)	ACTGGTCTAG	ATATATATCG	ATCCAACAAT	CTTATTTCATC	CAGCTACTCA
algL2 (548517)	ACTGGTCTAT	ATATATACCG	ATCTAATAAT	CTTATTTCATC	TAGCTACTCA
Consensus	ACTGGTCTAK	ATATATAYCG	ATCYAAYAAT	CTTATTTCATC	YAGCTACTCA
	810	820	830	840	850
algL1 (453571)	CTATATAACA	AGTTTCGCTA	ATGATCCAAA	AGTGGATATT	ACACAAGCTG
algL2 (548517)	TTATATAAATA	AACTTTTTCTA	AAGATCCAAAG	AGTATATATT	ACTCAGGCTA
Consensus	YTATATAAYA	ARYTTYKCTA	AWGATCCAAR	AGTRKATATT	ACWCARGCTR
	860	870	880	890	900
algL1 (453571)	TAAGATGCGT	GGAGATAATA	TTAAATGGAA	TGATGCTCGA	CCAAGACAAT
algL2 (548517)	TAAGATGTGT	GGAAATCATA	TTAAATGGAA	TCATCACCGA	TAACGATAAT
Consensus	TAAGATGYGT	GGARATMATA	TTAAATGGAA	TSATSMYCGA	YMAMGAYAAT
	910	920	930	940	950
algL1 (453571)	TGCTGTAAAA	ACTTTATTGA	TATAGCTTAC	CACTGTAAAT	TCGCTGATAA
algL2 (548517)	TGCTGTAAAA	ACTTTATTGG	TATAGCCTTC	CAATGTAAAT	TCGCTGATAA
Consensus	TGCTGTAAAA	ACTTTATTGR	TATAGCYTWC	CAMTGTAAAT	TCGCTGATAA
	960	970	980	990	1000
algL1 (453571)	AATTGGCGGC	CCGAAAAACG	CGATTAAATAC	TCTTTGGTCT	TGACATGTCT
algL2 (548517)	AATTGG-GGT	TCGAAAAACG	CGA-TCA-AC	AC-----T-T	TG----GTCT
Consensus	AATTGGCGGY	YCGAAAAACG	CGATTMATAC	WCTTTGGTCT	TGACATGTCT
	1010	1020	1030	1040	1050
algL1 (453571)	GCTACCAAGA	TCAGTTCTCG	AGATGGAGCA	CGGTGCATTG	TGGAAGATTA
algL2 (548517)	GCTACCAAGA	TCAGTTCTCG	AGATGGAGCA	CGGTGCATTG	TGGAAGATTA
Consensus	GCTACCAAGA	TCAGTTCTCG	AGATGGAGCA	CGGTGCATTG	TGGAAGATTA
	1060	1070	1080	1090	1100
algL1 (453571)	TGCAACATAT	CCCACATCA	ACAATGCACC	AAAATTAAGA	CATCAGCTGA
algL2 (548517)	TGCAACATAT	CCCACGTC	ACAATGCACC	AAAATTAAGA	CGTCAGCTGA
Consensus	TGCAACATAT	CCCACRTC	ACAATGCACC	AAAATTAAGA	CRTCAGCTGA

## Ergebnisse und Auswertung

	.... .... .... .... .... .... .... .... .... ....
	1110 1120 1130 1140 1150
algL1 (453571)	CAGATGATGG ACTTTTAAAGC TCGCCGAATC AACCTTGGGT GAATGATAAC
algL2 (548517)	CAGATGATGG ACTTTTAAAGC TCGCCGAGTC AACCTTGGGT GAATGATAAC
Consensus	CAGATGATGG ACTTTTAAAGC TCGCCGARTC AACCTTGGGT GAATGATAAC
	.... .... .... .... .... .... .... .... .... ....
	1160 1170 1180 1190 1200
algL1 (453571)	AACTCACAAT ATAGAGGGTC GTTGGTACA GTTAGAACGT TTTCTACGAC
algL2 (548517)	AACTCACAAT ATAGAGGGTC GTTGGTACA GTTAGAACGT TTTCTACGAC
Consensus	AACTCACAAT ATAGAGGGTC GTTGGTACA GTTAGAACGT TTTCTACGAC
	.... .... .... .... .... .... .... .... .... ....
	1210 1220 1230 1240 1250
algL1 (453571)	GGGAACACAG AAGAGAACAC CTCAGTCAAT GAATGGAGGA ATA-TTTCGT
algL2 (548517)	GGGAACGCAG ACGAGAACAC CTCAATCACT GAATGGAGGA ATACTTTCGT
Consensus	GGGAACRCAG AMGAGAACAC CTCARTCAMT GAATGGAGGA ATACTTTCGT
	.... .... .... .... .... .... .... .... .... ....
	1260 1270 1280 1290 1300
algL1 (453571)	TTTTAAA-GG GACGACAGAA AATGATCTAT CAACACGCCA TGTAGATAAT
algL2 (548517)	TTTTAAATGG GACAGCAGAA AATGATCTAT CAACACGCCA TGTAGATAAT
Consensus	TTTTAAATGG GACRRCAGAA AATGATCTAT CAACACGCCA TGTAGATAAT
	.... .... .... .... .... .... .... .... .... ....
	1310 1320 1330 1340 1350
algL1 (453571)	AGTTATGATG AAGATGGAGG AAGAGTTAAA GATATGATAT GGAGTTTGAT
algL2 (548517)	AGTTATGATG AAGATGGAGG AAGAGTTAAA GATATGATAT GGAGTTTGAT
Consensus	AGTTATGATG AAGATGGAGG AAGAGTTAAA GATATGATAT GGAGTTTGAT
	.... .... .... .... .... .... .... .... .... ....
	1360 1370 1380 1390 1400
algL1 (453571)	ACCTGGTAGT CAACATTTTG TATTATCAGA TAATCTCAAG TTTATACTTA
algL2 (548517)	ACCTGGTAGT CAACATTTTG TATTATCAGA TAATCTCAAG TTTATACTTA
Consensus	ACCTGGTAGT CAACATTTTG TATTATCAGA TAATCTCAAG TTTATACTTA
	.... .... .... .... .... .... .... .... .... ....
	1410 1420 1430 1440 1450
algL1 (453571)	ATTGTTGTAT GTGGTATATA TCATCATCAC TTACAAACAA TATTGGTAAA
algL2 (548517)	ATTGTTGTAT GTGGTATATA TCATCATCAC TTACAAACAA TATTGGTAAA
Consensus	ATTGTTGTAT GTGGTATATA TCATCATCAC TTACAAACAA TATTGGTAAA
	.... .... .... .... .... .... .... .... .... ....
	1460 1470 1480 1490 1500
algL1 (453571)	TCGATTATGA ATGCTTTTCG ATTTCCAGTT ACACTCACGT TTGTTCAATT
algL2 (548517)	TCGATTATGA ATGCTTTTCG ATTTCCAGTT ACACTCACGT TTGTTCAATT
Consensus	TCGATTATGA ATGCTTTTCG ATTTCCAGTT ACACTCACGT TTGTTCAATT
	.... .... .... .... .... .... .... .... .... ....
	1510 1520 1530 1540 1550
algL1 (453571)	TGGTCTTGTT GCTTTTGGT GTTATCTTGT TTCTGCTGTT TTTAAACTA
algL2 (548517)	TGGTCTTGTT GCTTTTGGT GTTATCTTGT TTCTGCTGTT TTTAAACTA
Consensus	TGGTCTTGTT GCTTTTGGT GTTATCTTGT TTCTGCTGTT TTTAAACTA
	.... .... .... .... .... .... .... .... .... ....
	1560 1570 1580 1590 1600
algL1 (453571)	CACATATTAG AGCACCTACA CATGATAT-T TAAAGACAAT TACACCATTA
algL2 (548517)	CACATATTAG ATCACCTACA CATGATATCT TGAAGACAAT TACACCATTA
Consensus	CACATATTAG AKCACCTACA CATGATATCT TRAAGACAAT TACACCATTA
	.... .... .... .... .... .... .... .... .... ....
	1610 1620 1630 1640 1650
algL1 (453571)	GCAGTATTTT T-ATTGTTGG TCATGTATTT TCAAGTGTAG CTATTAGTAG
algL2 (548517)	GCAGTATTTT TGATTGTTGG TCATGTATTT TCAAGTGTAG CTATTAGTAG
Consensus	GCAGTATTTT TGATTGTTGG TCATGTATTT TCAAGTGTAG CTATTAGTAG

## Ergebnisse und Auswertung

	.... ....  .... ....  .... ....  .... ....  .... ....	
	1660 1670 1680 1690 1700	
algL1 (453571)	AGTACCTGTT AGTTTGGTAC ATACAAT-AA GGt--aaaaa aaaaaaaaaa	
algL2 (548517)	AGTACCTGTT AGTTTGGTAC ATACAATCAA GGtaaaaaa aaaaaaaaaa	
Consensus	AGTACCTGTT AGTTTGGTAC ATACAATCAA GGTAAAAAA AAAAAAAAAA	
	.... ....  .... ....  .... ....  .... ....  .... ....	
	1710 1720 1730 1740 1750	
algL1 (453571)	tgattgtttg attgtatata ttaatatata aataattaGG CTTTAGCGCC	
algL2 (548517)	tgattgtttg attgtatata ttaatatata aataattaGG CTTTAGCGCC	
Consensus	TGATTGTTTG ATTGTATATA TTAATATAAA AATAATTAGG CTTTAGCGCC	
	.... ....  .... ....  .... ....  .... ....  .... ....	
	1760 1770 1780 1790 1800	
algL1 (453571)	ATTGTTTACA GTACTATTCT ATCGATTAT ATTTCAAGTA CGATATACAC	
algL2 (548517)	ATTGTTTACA GTGCTATTCT ATCGATTAT ATTTCAAGT GGATATACAC	
Consensus	ATTGTTTACA GTRCTATTCT ATCGATTAT ATTTCAAGTW SGATATACAC	
	.... ....  .... ....  .... ....  .... ....  .... ....	
	1810 1820 1830 1840 1850	
algL1 (453571)	AAAGAGT-TA TATTTTCATTA TTACCATTGA CACTTGGAGT TATACTTGCA	
algL2 (548517)	AAAGAGTATA TATTTTCATTA TTACCATTAA CACTTGGAGT TATACTTGCA	
Consensus	AAAGAGTATA TATTTTCATTA TTACCATTRA CACTTGGAGT TATACTTGCA	
	.... ....  .... ....  .... ....  .... ....  .... ....	
	1860 1870 1880 1890 1900	
algL1 (453571)	TGTTTCATTCA CATATTCAAA TAATATTGTT GGATTATCTT GTGCTTTAGG	
algL2 (548517)	TGTTTCATTCA CATATTCAAA TAATATTGTT GGATTATCTT GTGCTTTAGG	
Consensus	TGTTTCATTCA CATATTCAAA TAATATTGTT GGATTATCTT GTGCTTTAGG	
	.... ....  .... ....  .... ....  .... ....  .... ....	
	1910 1920 1930 1940 1950	
algL1 (453571)	ATCTTGCTTT ATCTTTGTTA CCCAAAATAT ATTCAGCAAG AAACCTTTAT	
algL2 (548517)	ATCTTGCTTT ATCTTTGTTA CCCAAAATAT ATTCAGCAAG AAACCTTTAT	
Consensus	ATCTTGCTTT ATCTTTGTTA CCCAAAATAT ATTCAGCAAG AAACCTTTAT	
	.... ....  .... ....  .... ....  .... ....  .... ....	
	1960 1970 1980 1990 2000	
algL1 (453571)	TTAAAGAATC TAAACTAGGT GATCGGAATC CCAACAAATT GGATAAATTG	
algL2 (548517)	TTAAAGAA-- T---C----- --T---A-- --AAC-----T-	
Consensus	TTAAAGAATC TAAACTAGGT GATCGGAATC CCAACAAATT GGATAAATTG	
	.... ....  .... ....  .... ....  .... ....  .... ....	
	2010 2020 2030 2040 2050	
algL1 (453571)	AATGTATTAT TCTATTCATC TTGTTTATCA TTTTACTTA TGATACCTTT	
algL2 (548517)	-A-G----- --G----- --G----- --G-----TGAT--C---	
Consensus	AATGTATTAT TCTATTCATC TTGTTTATCA TTTTACTTA TGATACCTTT	
	.... ....  .... ....  .... ....  .... ....  .... ....	
	2060 2070 2080 2090 2100	
algL1 (453571)	ATGGATTTAT TATGATGGAA TTGGATTAAT GAATATGGAA GAAGGAGATT	
algL2 (548517)	-----T-----T-----T-----T-----G-----	
Consensus	ATGGATTTAT TATGATGGAA TTGGATTAAT GAATATGGAA GAAGGAGATT	
	.... ....  .... ....  .... ....  .... ....  .... ....	
	2110 2120 2130 2140 2150	
algL1 (453571)	TATCAACATC AAGACTAATC ATTTATTTCT TATTAAATGG TACAATGAAC	
algL2 (548517)	----- --G---AATC -----C----- --C---AA-	
Consensus	TATCAACATC AAGACTAATC ATTTATTTCT TATTAAATGG TACAATGAAC	
	.... ....  .... ....  .... ....  .... ....  .... ....	
	2160 2170 2180 2190 2200	
algL1 (453571)	TTTTCTCAA ATTGGTTTGC TTTTACAACA CTCAGTTTAA CTTCACCTGT	
algL2 (548517)	-----C-AA ATT-G---G- -----A -T-A-----AA --T---TG-	
Consensus	TTTTCTCAA ATTGGTTTGC TTTTACAACA CTCAGTTTAA CTTCACCTGT	

	..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... .....
	2210 2220 2230 2240 2250
algL1 (453571)	TACATATTCA ATTTTATCAC TTTTAAAAAG AATATTGTGC ATTGTGATGA
algL2 (548517)	-----A--A- ---T-----G --TA--T-T- A---T--T--
Consensus	TACATATTCA ATTTTATCAC TTTTAAAAAG AATATTGTGC ATTGTGATGA
	..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... .....
	2260 2270 2280 2290 2300
algL1 (453571)	GCATTGTATG GTTTGGACAA CAAATATCTG GACACAATCA ATGGGTATAT
algL2 (548517)	-C-----TA-- --TT----- C-----A--T- ----C--T-- -T--G--T-T
Consensus	GCATTGTATG GTTTGGACAA CAAATATCTG GACACAATCA ATGGGTATAT
	..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... .....
	2310 2320 2330 2340 2350
algL1 (453571)	TATTAAC TTT TATTGGATTA TGGATGTATC AAAAAGCAAA ATCAGATGTC
algL2 (548517)	TA-T--C--- -----A T---T-T-T- ----- -T---A---C
Consensus	TATTAAC TTT TATTGGATTA TGGATGTATC AAAAAGCAAA ATCAGATGTC
	..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... .....
	2360 2370 2380
algL1 (453571)	GATAAAGGTG AAAC TAAAT TAGGAAACT CA
algL2 (548517)	-----T- ----T---A- T--G---A-T --
Consensus	GATAAAGGTG AAAC TAAAT TAGGAAACT CA

Abb. 59: Alignment und Consensus-Sequenz der *algL* Gene (Protein IDs 453571 und 548517) von *Zygorhynchus heterogamus*. (modifiziert nach Schulz et al., 2016a)

Vergleicht man beide *tptA* Gene miteinander, so stellt man eine Ähnlichkeit von 74 % auf Nucleotid-Sequenz fest (Optimal Global Alignment). Dies ist weitgehend auf unterschiedliche Längen am C- und N-Terminus der Sequenz zurückzuführen (Abb. 59).

Die beiden *algL* Gene liegen unmittelbar neben *tptA*. Die *algL* Gene zeigen mit ca. 62-68 % die höchste Ähnlichkeit zu den Proteinsequenzen beider Kreuzungstypen von *Mucor mucedo* (AFA26126.1 (+)-Stamm; AFA26122.1 (-)-Stamm). Die Nucleotid-Sequenzähnlichkeit beider *algL* Allele zueinander beträgt 76 % (Abbildung; Optimal Global Alignment).




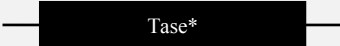


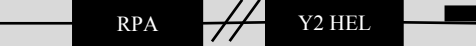
Die besondere, chimärenartige Struktur des *sex*-Locus von *Zygorhynchus heterogamus* lässt vermuten, dass der Kreuzungstyp-Locus von heterothallischen Spezies abstammen (Schulz et al., 2016a).

Während der Analyse der Kreuzungstyp-Loci der homothallischen *Mucorales*, *Zygorhynchus heterogamus* und *Mycotypha africana*, fiel auf, dass innerhalb der *sex*-Loci einige transponierbare Elemente kartieren (Tabelle 13 Tabelle 14; Abb. 57). Transponierbare Elemente sind kleine, bewegliche DNA-Abschnitte, die innerhalb eines Genoms den Platz entweder wechseln oder als Folge eines Kopiermechanismus zusätzlich an neue Loci transponiert werden können.

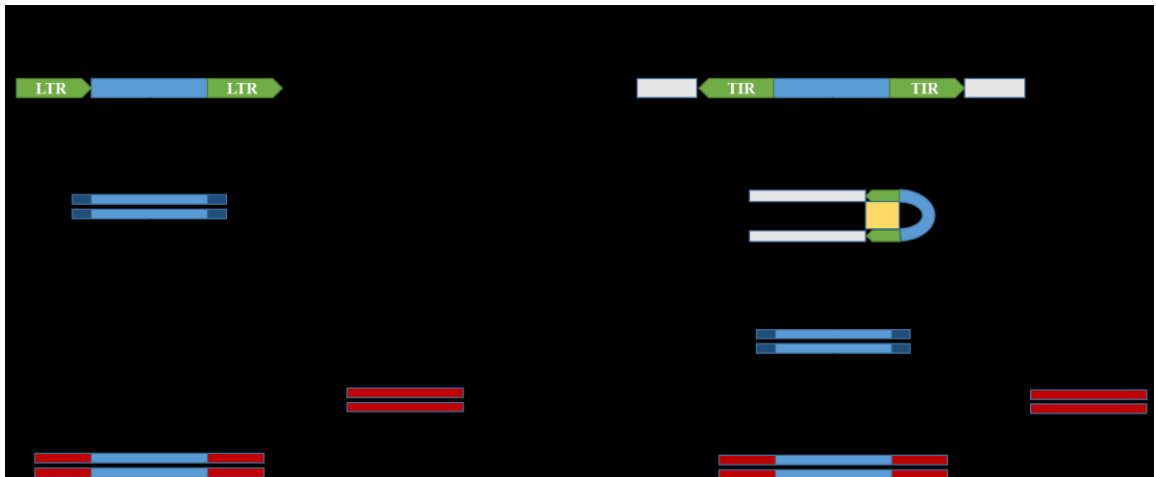
Dadurch sind transponierbare Elemente in der Lage, komplizierte chromosomale Rearrangements wie Deletionen, Duplikationen, Inversionen und Translokationen herbeizuführen.



**Tabelle 13: Klassifizierung und Struktur der transponierbaren Elemente am *sex*-Locus von *Zygorhynchus heterogamus* und *Mycotypha africana*.** Die Transponierbaren Elemente können auf der Basis von RNA als Transpositionszwischenprodukt in zwei Hauptklassen aufgeteilt werden. Die Hauptklassen kann man zusätzlich in weitere Superfamilien untergliedern. (modifiziert nach Bao et al., 2015; Wicker et al., 2007)

Ordnung	Superfamilie
<b>Klasse 1 (Retrotransposons)</b>	
LTR →  „long terminal repeat”	<i>Copia</i>
	<i>Gypsy</i>
NonLTR 	<i>CRE</i>
	<i>Tad1</i>
DIRS —  — “Dictyostelium intermediate repeat sequence”	<i>DIRS</i>
<b>Klasse 2 (DNA Transposons)</b>	
Mariner 	
Harbinger 	
EnSpm/CACTA 	
Kolobok	
MuDR	
Helitron 	
<b>Proteindomänen:</b>  AP – Aspartylproteinase INT – Integrase RT – Reverse Transkriptase	GAG – Capsid Protein RH – RNase H YR- Tyrosin Rekombinase Tase – Transposase (* mit DDE Motiv)

Transponierbare Elemente unterscheidet man in DNA-Transposons und Retrotransposons. Die DNA-Transposons sorgen dafür, dass ein bestimmter Abschnitt der DNA im Genom ausgeschnitten und an einer anderen Stelle wieder eingefügt werden kann (Finnegan, 1989; Wicker et al., 2007). Der Mechanismus der Mobilisierung von DNA-Abschnitten beider TE-Klassen wird in Abb. 60 dargestellt.



**Abb. 60: Mechanismus der Mobilisierung von DNA-Abschnitten der beiden Klassen transponierbarer Elemente, Retrotransposons und DNA-Transposons.** (modifiziert nach Levin und Moran, 2011)

Die meisten transponierbaren Elemente am *sex*-Locus von *Zygorhynchus heterogamus* gehören zum Typ der DNA-Transposons aus der Mariner-Klasse. Im ca. 288 kb großen *sex*-Locus von *Mycotypha africana* findet man dagegen eine breitere Vielfalt an sowohl von DNA-Transposons als auch von Retrotransposons, die sich hauptsächlich zwischen *sexM* und *sexP* anordnen (Tabelle 14). Am *sex*-Locus des (–)-Kreuzungstypes von *Absidia glauca* wurde ebenfalls ein DNA-Transposon der Untergruppe Helitron (pfam14214, pfam05970) gefunden (Abb. 56)

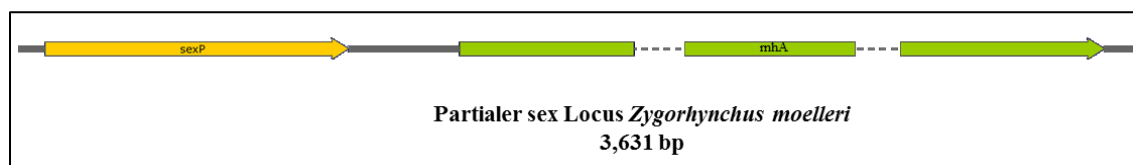
**Tabelle 14: Transponierbare Elemente (TE) und deren konservierte Proteindomänen am *sex*-Locus von *Mycotypha africana*.** Die Transposons wurden mit Repbase detektiert (<http://www.girinst.org/censor/>; Bao et al., 2015).

TE-Klasse	Sequenz-Abschnitt	Hit	Protein-Domäne
DNA/Mariner	2903 - 2983	Mariner-1_ROr	pfam13358
	4568 - 4711	Mariner-1_ROr	pfam13358
	4850 - 5034	Mariner-5_ROr	pfam1358; COG3335
DNA/EnSpm/C ACTA	53415 - 53455	EnSpm-2_ROr	N/A
NonLTR/Tad1	70804 - 70850	Tad1-60_BG	N/A
LTR	84446 - 84500	TY	N/A
DNA/Helitron	87090 - 87131	Helitron-1_AN	N/A
DNA/MuDR	87182 - 87214	MuDRF-2_PSt	N/A
LTR/Gypsy	99528 - 99775	Gypsy-14_RO-I	cd09274; cd01647; smart00298; cd00024; pfam00385; pfam00078
DNA/Mariner	115043 - 116075	Mariner-9_ROr	COG3335; pfam13358
LTR/Gypsy	133149 - 133198	Gypsy-14_RO-LTR	N/A
DNA/Mariner	134479 - 134998	Mariner-4_ROr	COG3335; pfam13358
DNA	137749 - 138279	DNA-TA-2_ROr	COG3335; pfam13358
	146449 - 146979	DNA-TA-2_ROr	pfam13358; pfam01498
DNA/Mariner	149034 - 149659	Mariner-1_SLL	COG3335
	151412 - 152037	Mariner-1_SLL	
LTR/Gypsy	158391 - 16142	Gypsy-24_RO-I	cd09274; cd01647; smart00298; cd00024; pfam00385; pfam00078
	161883 - 161948	Gypsy-75_MLP-I	
	162267 - 162730	Gypsy-24_RO-I	
	188243 - 188291	Gypsy-3_CPu-I	
	189579 - 189681	Gypsy-72_MLP-I	
DNA/MuDR	191313 - 191488	MuDRF-1_PGr	pfam07282
DNA/Kolobok	197254 - 197348	KolobokH-4_RIr	N/A
LTR/Copia	197909 - 197994	Copia-53_MLP-I	N/A



LTR/DIRS	207897 - 208628	DIRS-1_RO	N/A
	209184 - 212209	DIRS-1_RO	cd03714; cd09275; pfam00078; TIGR04416
DNA/Harbinger	213438 - 213438	Harbinger-4B_PSt	N/A
DNA/Mariner	215396 - 216030	Mariner-1_ROr	COG3335; pfam13358
NonLTR/CRE	231567 - 231607	MoTeR1	N/A
NonLTR	250827 - 250891	Deceiver-3_MLP	N/A
LTR/Copia	251305 - 251406	PCAL_I	N/A
DNA/Harbinger	254014 - 254109	Harbinger-4D_PSt	N/A

Dr. Jana Wetzel (dieser Lehrstuhl) identifizierte das *rnhA*-Gen und den danebenliegenden SexP-Transkriptionsfaktor der homothallischen Spezies *Zygorhynchus moelleri* (Abb. 61). Wie erwartet ist SexP sehr ähnlich zum homologen Protein des nahe verwandten *Zygorhynchus heterogamus* (62.1 %; E-value:  $6.17 \times 10^{-124}$ ), während die Ähnlichkeit mit SexP von *Mucor mucedo* etwas geringer ist (56 %; E-value:  $2 \times 10^{-119}$ ). Bis jetzt konnten mit den gewählten Methoden keine weiteren Gene am *sex*-Locus identifiziert werden.



**Abb. 61: Partieller *sex*-Locus des homothallischen Zygomyceten *Zygorhynchus moelleri*.** Gezeigt wird das HMG-Domänen-kodierende Gen *sexP* und das konservierte *rnhA*-Gen. Die Genkarte wurde mit der SnapGene® Software (von GSL Biotech; erhältlich auf [snapgene.com](http://snapgene.com)) erstellt und von Hand annotiert. (modifiziert nach Schulz et al., 2016a)

Die Amplifikation und Sequenzierung des *sexP* Genes der vorgestellten Entwicklungsmutanten ergab keine Sequenzunterschiede im Vergleich zum Wildtyp (siehe Anhang Abb. 2).

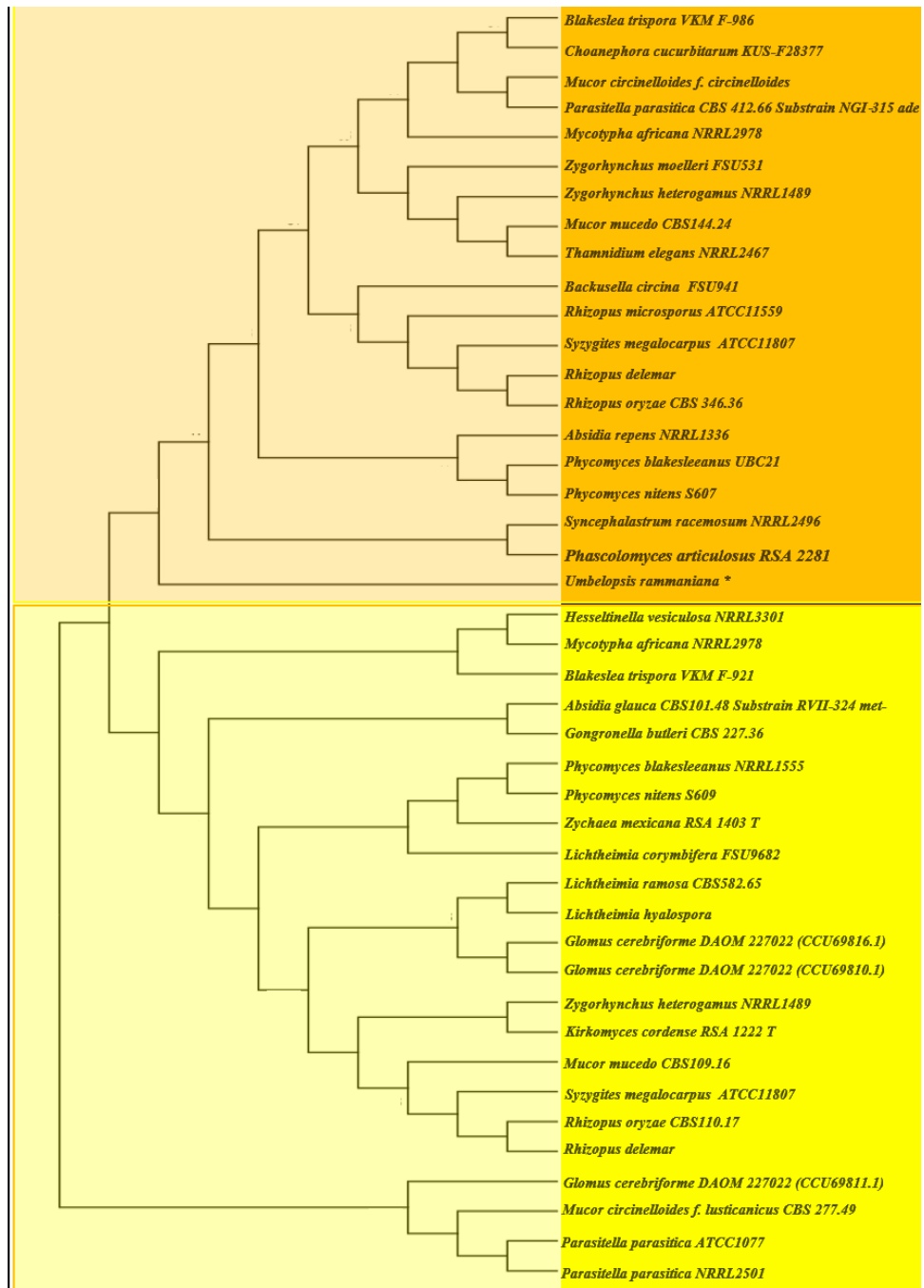
### 5.6.3 SexM und SexP als HMG-Domänen Transkriptionsfaktoren

Die HMG-Domänen (pfam00505, IPR009071, smart00398, cd01389) von SexM und SexP sind innerhalb der verschiedenen Gattungen der Mucorales hochkonserviert und können mit clustalW-Alignment und phylogenetischer Analyse gruppiert werden (Abb. 62; Halary et al., 2013; Schulz et al., 2016a). Dabei ordnen sich die HMG-Domänen

zweier verschiedener *Parasitella parasitica* Isolate, NRRL 2501 und ATCC 11077, phylogenetisch mit einem größeren Abstand zu den restlichen Spezies ein. Die HMG-Domäne von SexP von *Parasitella parasitica* CBS 412.66 (Mutante NGI-315 ade-) passt dagegen in das Cluster aller anderen SexP HMG-Sequenzen. Die drei Isolate von *Parasitella parasitica* sind genetisch nicht völlig identisch, obwohl sie höchstwahrscheinlich von der gleichen Stelle isoliert wurden. Sowohl *Parasitella parasitica* NRRL 2501 als auch ATCC 11077 sind trotzdem in der Lage, mit dem komplementären Kreuzungspartner CBS 412.66 beziehungsweise dessen Mutante NGI-315 ade- zu kreuzen (Anke Burmester, dieser Lehrstuhl, persönliche Mitteilung).

Da für *Umbelopsis rammaniana* (JGI) keine Stammnummer bekannt ist, kann man nicht eindeutig feststellen, ob es sich bei diesem Isolat um einen (+)- oder (-)-Kreuzungstyp handelt. Blast Ergebnisse ergaben sowohl zu sexM von *Lichtheimia corymbifera* (E-value  $2 \times 10^{-5}$ ) als auch zu sexP von *Phycomyces blakesleeanus* (E-value  $8 \times 10^{-9}$ ) eine 31-%ige Ähnlichkeit. Im auf dem Alignment der HMG-Domänen basierenden Kladogramm gruppiert sich *Umbelopsis rammaniana* in die Klasse der sexP HMGs ein. Der Fakt, dass die HMG-Domäne von *Umbelopsis rammaniana* in der Mitte von SexP liegt und nicht wie für SexM typisch am N-Terminus, spricht dafür, dass es sich hier um einen Stamm handelt, der in der Kreuzung als (+)-Kreuzungspartner interagiert (Schulz et al., 2016a).

In der Schwestergruppe der Zygomyceten, den Glomeromycota, wurden für *Glomus cerebriforme* und *Rhizophagus irregularis* Gene für HMG- Transkriptionsfaktoren gefunden, die homolog zu SexM und SexP der *Mucor*-artigen Zygomyceten sind. Während sexM in vielen Kopien im Genom einer Spezies vorkommt, wurde nur eine Kopie von sexP in *Rhizophagus irregularis* gefunden (Halary et al., 2013). Die korrespondierenden HMG-Domänen der Glomeromycota gliedern sich problemlos in den phylogenetischen Baum der Transkriptionsfaktoren der Mucorales ein (Abb. 62).



**Abb. 62: Phylogenie der HMG Domänen in putativen sex-kodierenden Transkriptionsfaktoren.** Die Gene SexM (gelb) und SexP (orange) von verschiedenen Mucorales und Glomeromycota wurden analysiert. Die Proteinsequenzen von SexM und SexP wurden von den Genbanken (National Center for Biotechnology/NCBI und JGI Mycocosm) geladen (Grigoriev et al., 2014). Die HMG Domänen wurden mit InterPro (P. Jones et al., 2014) ausgewählt, und bis zu 77 Aminosäuren wurden mit ClustalW aligniert. Die Neighbour Joining Analyse wurde mit EMBL-EBI (Kanz et al., 2005) und Fig. Tree (<http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>) durchgeführt (modifiziert nach Schulz et al., 2016a).

SexM

	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....
	10	20	30	40	50
SAM01482.1_(Absgl)	-----	-----	---MHPLTIV	IETYDSNVGN	THFDSETALK
CDN67533.1_(Blatri)	-----	-----	---MSLF	VNTFQADH--	-----
1338441_(Hesve)	-----	-----	---MFSLIF	VDCTPDSTKV	VASNAADKEA
CDH60400.1_(Licco)	-----	-----	---MYQLVF	VNELAREYQA	VTGSGTSPIS
126876_(Lichy)	-----	-----	-----	-----	-----
CDS03202.1_(Licra)	-----	-----	---MSSAPN	NQTRQEDLDE	LSALVSDRQK
153347_(Mucci)	-----	-----	---MMELLW	VTEEINKN--	-----
AFA26123.1_(Mumu)	-----	-----	---MSTPYF	VNNYQTQY--	-----
ABX27909.1_(Phybl)	-----	-----	---MESFMF	VNEFKNSYQP	PSDILTESIS
CED81987.1_(Phyni)	-----	-----	---MNSFMF	VNEFKNSYQP	SDNIITENIL
ADT91565.1_(Rhide)	-----	-----	---MSLFIF	VDESRTNN--	-----
ADT91543.1_(Rhior)	-----	-----	---MSLFIF	VDESITNN--	-----
787907_(Mycafr)	-----	-----	-----	-----	-----
AET35419.1_(Syzme)	-----	-----	---MSFLIF	VDESYSNK--	-----
347961_(Zyghet)	-----	-----	---MTCFLF	VNEYQTKY--	-----
241733_(Kircor)	-----	-----	-----	-----	-----
929090_(Zycmex)	-----	-----	---MQSFMF	VNEFKSSYSF	SSREHGCTIS
217502_(Gonbut)	-----	-----	-----	-----	-----
CCU69810.1_(Gloce)	-----	-----	-----	-----	-----
CCU69811.1_(Gloce)	-----	-----	-----	-----	-----
CCU69816.1_(Gloce)	YVSYDRVQDL	YEQNKGTLF	IPEGFEPVLV	PNDAKAQTVT	NLENNAKPVV
1:416734-416958_(Parpa1)	-----	-----	LLAALSVFIV	LENINHPCLS	QIRAFFFPPT
KY081664_(Parpa2)	-----	-----	-----	-----	-----
	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....
	60	70	80	90	100
SAM01482.1_(Absgl)	SAHFM----	-----	---QEFSKSK	LYSNENTAKE	NPKVPRPKNA
CDN67533.1_(Blatri)	-----	-----	---QKHK--	----CRSPVK	QKNTSRPLNA
1338441_(Hesve)	G-----	-----	---PLAPSTP	VRGGKNRGRV	EKKIARPMNN
CDH60400.1_(Licco)	NSN-----	-----	---HTSTTGTI	TRRAPRPRNA	-----
126876_(Lichy)	-----	-----	---MNRRQ	RPQRKQKRKH	PERIPRPINC
CDS03202.1_(Licra)	MK-----	-----	---MTRRQ	RPQRKQKRKH	PERIPRPINC
153347_(Mucci)	-----	-----	-----	-SVAKKDSPA	VKHIRRPENA
AFA26123.1_(Mumu)	-----	-----	---SNPSVVI	DP-----	AI NSVTKRPRNA
ABX27909.1_(Phybl)	STP-----	-----	---VRQKCISS	TVKIRRPKNA	-----
CED81987.1_(Phyni)	SSS-----	-----	---VRNKSMTTS	AVKIRRPKNA	-----
ADT91565.1_(Rhide)	-----	-----	---RSSSSNE	EISSHQADTP	KEKAPRPKNA
ADT91543.1_(Rhior)	-----	-----	---RSSSSNE	EISSHQADTT	KEKTPRPKNA
787907_(Mycafr)	-----	-----	-----	-----	---RLNA
AET35419.1_(Syzme)	-----	-----	---ISTSNNT	QSSS----	MN KGKIPRPKNA
347961_(Zyghet)	-----	-----	---SKSLEKI	NRGRCQKSSG	TTKTTPRPNA
241733_(Kircor)	-----	-----	-----	-----	---DRPPRPNA
929090_(Zycmex)	PSVNRL----	-----	-----	---RRKRALVWN	SKKVPRPQNA
217502_(Gonbut)	-----	-----	-----	-----	---PKIPRTSNA
CCU69810.1_(Gloce)	-----	-----	-----	-----	---KTRPRPNA
CCU69811.1_(Gloce)	-----	-----	-----	-----	---KIPRPQNA
CCU69816.1_(Gloce)	AAPNVPRMLP	DTDVRLPSFA	LPCGVAGPPP	KATSSNAKTK	IKKPPRPNA
1:416734-416958_(Parpa1)	IISLR-----	-----	---KM KIVITTAEDI	LSESQKTGPT	KEKIKRPSNS
KY081664_(Parpa2)	-----	-----	---M KIVITTAEDI	ISESQKAGAS	REKIKRPSNS
	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....
	110	120	130	140	150
SAM01482.1_(Absgl)	FFLYRKEKHN	EIKKRHHDSG	MKLPEKDVV	KIIGQMWNQNE	TPQVRKFFEHE
CDN67533.1_(Blatri)	FMFYRKEKTE	NMQTDWM---	---KLHQSQLS	ALIGEMWKRE	NEDVVKLYYR
1338441_(Hesve)	YFTYMNYMQI	WVMQYLAMNG	IKRIPLKHIN	KHLGEQWKRE	PSHIKLFESR
CDH60400.1_(Licco)	FILYRQARRA	EIRAKNC---	---KLHSSEIS	KIAAQMWKHE	SETVRQQFAR
126876_(Lichy)	FLAYRLDMQK	VIIERCPC---	---DANHRDIS	KLVAKWWRRE	PEHVKEKYRM
CDS03202.1_(Licra)	FMAYRLDMQK	VIVDRCP---	---GANHRDIS	KIVAKWWRQE	PESVKEKYKI
153347_(Mucci)	FMIFRKRKVR	PFHK-----	---ELHASEIS	RLAKEQWWQL	TDEEHKYYAR
AFA26123.1_(Mumu)	FILYRREKQK	NITISTM---	---NLHSDKFS	KEAAKMWRRE	PEHIRLKYQR
ABX27909.1_(Phybl)	FMLYRQAVHP	SILSSNS---	---TIHNKEIS	RTAGKMWKNE	KEEVKYYER
CED81987.1_(Phyni)	FMLYRQAVHP	RILSANS---	---SLHNKDIS	RTAGEMWRNE	KEEVKYYER
ADT91565.1_(Rhide)	FMLYRQEKQK	GLPLSKT---	---KLLSKDFS	KIAAEMWRRE	SNEVRMYYHR
ADT91543.1_(Rhior)	FMLYRQEKQK	GLPLSKT---	---KLLSKDFS	KIAAEMWRRE	SNEVRMYYHR
787907_(Mycafr)	FMLYRSEKRV	LFGS-----	---RFHAKESV	KMLGQMWRRE	PDTTKAFYQK
AET35419.1_(Syzme)	FMLYRQEKQK	ILPLSKK---	---RVLSKDFS	KTVGEMWRNE	KDDIRKYFHL
347961_(Zyghet)	FMLYRQDKLK	IIAVSNM---	---NMHSSEKS	KVIGGMWRNE	PEEKKMEYAR
241733_(Kircor)	FMLYRQDKHK	NLTKS-----	---MQSKEIS	KIVAHMWRNE	TEEVMEYER
929090_(Zycmex)	FMLYRQAVRP	SILSQDP---	---KLHNKDIS	RKAGELWKKE	PEEIKKHFER
217502_(Gonbut)	FFLYRKQRNE	EFKHQHK---	---G KKKPTQAEIN	KIWADDWRRE	SPAVLRHFAP
CCU69810.1_(Gloce)	FILYRQAKQA	DVFAQNE---	---KLSNAEVS	KIVSKMWWKE	NEEERFQWEK
CCU69811.1_(Gloce)	WVLFKRDYEA	NQRLKFP---	---DKTLKMNVS	TDAGEIWRNQ	PLKIKRYFEI

# Ergebnisse und Auswertung

CCU69816.1_(Gloce)	FILYRRAKQP	GIVARHQ---	--GITNNEVS	KEIGRMWHEE	PAEVRQKFQK
1:416734-416958 (Parpa1)	FLCFRTYFNS	KFRDVMN---	-QQEKQCDIS	RMARDAWKLM	SEYEKRQWSR
KY081664_(Parpa2)	FLCFRTYFNS	KFRDVMK---	-QQEKQCDIS	RMARDAWKLM	SEYEKRQWSR
	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....
	160	170	180	190	200
SAM01482.1_(Absgl)	KAEMESLDHS	HKNRGYKYQP	RQKKNVPRRL	RKTHSETKEH	TTHNIMKPN
CDN67533.1_(Blatri)	MAEEAALAH	QKHGPGYKSP	KQRRKNKAPE	AKVIGSPKVT	KCKQTEAKQK
1338441_(Hesve)	LADINNLDHM	RANPGYKYRP	AQTMEKKRGK	KDIAKARSLK	VVHSLPRSRK
CDH60400.1_(Licco)	KADEEKLMDH	HAYPGYKYRP	QKRKRD----	-----	-----GTT
126876_(Lichy)	MAEIAKQEH	QMYPNYKYAP	RRRR-----	-----	-----
CDS03202.1_(Licra)	VAEMAKQEH	QMYPNYKYTP	RRRRANGSPS	SSSSSAETSY	QQHQQEDNET
153347_(Mucci)	ESEIEKLKHS	VSYPNWKYAP	KPSRKKKSPK	GKRLQTTTAP	DKSPLSINQI
AFA26123.1_(Mumu)	MADEEKERHS	TIYPGYKYAP	QQRKYAMTS	ENQAQRSLK	NRNVKMSMRT
ABX27909.1_(Phybl)	KADEEKLYHS	KKFPGYIYKP	QQRKTRRPQS	TVCKPFLRST	SDIQLIYQKT
CED81987.1_(Phyni)	KADEERLYHS	KKFPGYIYKP	QQRKTRRLRT	GSFNSLLRSS	TDIQLIYHKA
ADT91565.1_(Rhide)	LAEEEEKLRL	AKHPGYKYCP	KRQSLAHVDK	N-----E	YQGLADTTPI
ADT91543.1_(Rhior)	LAEEEEKLRL	AKHPGYKYCP	KRQSLAHVDK	N-----E	YQVLADTTPI
787907_(Mycafr)	KADRMKLEHL	SKYPEYRYLP	QSRKK-----	-----	-----TTAKQH
AET35419.1_(Syzme)	LADREKIEHT	KKYPEYKYNP	RQKKTSYAK	NK-----E	YKEQPSMVIS
347961_(Zyghet)	MAAREKEEHS	QRYPDYKFS	K-RKKLS---	-----	-----
241733_(Kircor)	LAEIEKLNIH	VAYPQYKYAP	KQRKKIPLSP	QAQKRTFNDN	NENHAFSVKD
929090_(Zymex)	KADEEKLYHS	QAHPGYKYRP	QQKKR-----	-SYENPSRE-	-----QKT
217502_(Gonbut)	LAEQAAVDQ	QKHPHYKYQP	RQPK-----	-----	-----
CCU69810.1_(Gloce)	RADMMKVVKH	QDYPDY----	-----	-----	-----
CCU69811.1_(Gloce)	LSKLAHQH	ILYPDYKYTP	KKKSIK----	-----	-----
CCU69816.1_(Gloce)	MADAQKQEH-	-----	-----	-----	-----
1:416734-416958 (Parpa1)	VAEEKSIQHK	KLHPLYKFNP	ITKKKRLPRS	KTKKTSIQVI	ES-----S
KY081664_(Parpa2)	VAEEKSIQHK	QLHPLYKFNP	ITKKKRLQRS	KSNKLGSQLM	NSYTDIDQAS
	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....
	210	220	230	240	250
SAM01482.1_(Absgl)	TQAVVVDNFD	KTSMFPTSLP	SQCLSQD---	-DLQALLNGA	NFDSFDVNVL
CDN67533.1_(Blatri)	EKNQTVSHSV	KASTIPESPD	HTNSLDISDF	IDPNTLEFRL	DAFNFDVDDL
1338441_(Hesve)	REVAPQVSS	EYQ-----	-----	-----KPSAS	INPGPIQSTV
CDH60400.1_(Licco)	RKWHPPPELKK	TT-----	-----C	NN-----	ENAGTVHEFSDIS
126876_(Lichy)	-----	-----	-----	-----	-----
CDS03202.1_(Licra)	PCIDLTSFVS	MNFAASEPYD	NMMPFSYNGG	PWETAIMTDC	WPTAPIMQDC
153347_(Mucci)	DATPINQLGS	TTSDTSLNLS	FQGSVASNQH	VQHFDDLSNS	TSLLDNNSNL
AFA26123.1_(Mumu)	NVQPTYPPEA	LFDGSDVIDF	CNNENFE---	-EFTLTEDHF	DHIQSVPPST
ABX27909.1_(Phybl)	ESKSPSEKLS	AT-----	-----S	QDYIIHCDE	STNEDEILNT
CED81987.1_(Phyni)	ESIPSTDKIN	MK-----	-----T	QNYIIQSNE	STNEDDILNT
ADT91565.1_(Rhide)	VVEMDD---	-----	-----	-----QIAFVHRN	VSFDEVSPTS
ADT91543.1_(Rhior)	VGEMDN---	-----	-----	-----QMAFVHRN	VSFDEVSPTS
787907_(Mycafr)	NDSDA-----	-----	-----	-----	-----
AET35419.1_(Syzme)	DKEAEN---	-----	-----	-----LSVYENTI	KIVDSVFHNA
347961_(Zyghet)	-----	-----	-----	-----	-----
241733_(Kircor)	KTEIVSSGCT	ALNEILQNEA	QSADG-----	-QLTLFDNLV	SSMDQDTILT
929090_(Zymex)	EEAVPCQPG	ST-----	-----G	EDTFKQAYEK	---QDLLANS
217502_(Gonbut)	-----	-----	-----	-----	-----
CCU69810.1_(Gloce)	-----	-----	-----	-----	-----
CCU69811.1_(Gloce)	-----ETINTK	K-----	-----	-----	-----
CCU69816.1_(Gloce)	-----	-----	-----	-----	-----
1:416734-416958 (Parpa1)	SSSSDEISTS	HTQIEMTDCM	N-----	KPVSPVEPFD	YIVKELSNPT
KY081664_(Parpa2)	SSSSDEIPAS	HPQIDVTDCTM	N-----	KIASPVPEPFD	YIVKELSNPT
	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....
	260	270	280	290	300
SAM01482.1_(Absgl)	HDSSIVKESL	RDVNPLDDDF	FDLCSNSSYT	DARVI-----	-----
CDN67533.1_(Blatri)	PPSDIVHEEN	LFPESLNTDM	LTRILLVQQF	C-----	-----
1338441_(Hesve)	PTACLSQDDL	SNMFSVDFDR	IVVNNILPDD	LLDLNGCQL	DLSS-----
CDH60400.1_(Licco)	PPSQCLDDSF	LGTFLDD--Y	TIFGLYQTDV	PDH-----	-----
126876_(Lichy)	-----	-----	-----	-----	-----
CDS03202.1_(Licra)	TTMASVLHAP	YYLNMDLQQQ	LTPTSFPES	DLSTAAALSQ	CWIQPTPSTS
153347_(Mucci)	NPRAFHPNDA	HPSFSHVPT	SSISNLSLAP	TAVFNEYHMD	CGNLSVEELF
AFA26123.1_(Mumu)	PPSSVVDISH	LFPGGSNLDS	MSVKNYELFT	ILSFTQST--	-----
ABX27909.1_(Phybl)	PPTQCLDDSI	LKTFLLDLSF	DIFSPIDELI	FSLCS-----	-----
CED81987.1_(Phyni)	PPTQCLDDSI	LKTFLLDLSF	DIFSPVDELI	FSLCS-----	-----
ADT91565.1_(Rhide)	PPSSMIQDLQ	IFPXTNLDA	LSLVDEYFYL	LLSIMS----	-----
ADT91543.1_(Rhior)	PPSSMVQDLQ	IFPEGTNLDA	LSLVDEYFYL	LLSIMS----	-----
787907_(Mycafr)	-----	-----	-----	-----	-----
AET35419.1_(Syzme)	PPSSVQDLQ	LFPEGSNLDF	LSYDEYELHT	QLSAIFHY--	-----
347961_(Zyghet)	-----	-----	-----	-----	-----
241733_(Kircor)	LPSEILDDCQ	ILPDSTELDL	MAIKDYELYT	LLSVMS----	-----
929090_(Zymex)	PPSQCLDATI	VQTFDDQTTY	AWYN--DNIL	L-----	-----
217502_(Gonbut)	-----	-----	-----	-----	-----



## Ergebnisse und Auswertung

CCU69810.1_(Gloce)	-----	-----	-----	-----	-----
CCU69811.1_(Gloce)	-----	-----	-----	-----	-----
CCU69816.1_(Gloce)	-----	-----	-----	-----	-----
1:416734-416958 (Parpa1)	LPSSSVDDAH	LIIDGANIDF	RTIIDLWINV	EK-----	-----
KY081664_(Parpa2)	LPSSSLDESH	LIIDGASIDF	RTIIDLWIND	EK-----	-----
	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....
	310	320	330	340	350
SAM01482.1_(Absgl)	-----	-----	-----	-----	-----
CDN67533.1_(Blatri)	-----	-----	-----	-----	-----
1338441_(Hesve)	-----	-----	-----	-----	-----
CDH60400.1_(Licco)	-----	-----	-----	-----	-----
126876_(Lichy)	-----	-----	-----	-----	-----
CDS03202.1_(Licra)	TSTASSSCSI	LSHHHQQQYE	QHRNPTTIMD	DNNIMPSSLL	VTEPNSLSYN
153347_(Mucci)	AKEFSMFFTS	DNLDNLLLFN	NKAP-----	-----	-----
AFA26123.1_(Mumu)	-----	-----	-----	-----	-----
ABX27909.1_(Phybl)	-----	-----	-----	-----	-----
CED81987.1_(Phyni)	-----	-----	-----	-----	-----
ADT91565.1_(Rhide)	-----	-----	-----	-----	-----
ADT91543.1_(Rhior)	-----	-----	-----	-----	-----
787907_(Mycafr)	-----	-----	-----	-----	-----
AET35419.1_(Syzme)	-----	-----	-----	-----	-----
347961_(Zyghet)	-----	-----	-----	-----	-----
241733_(Kircor)	-----	-----	-----	-----	-----
929090_(Zycmex)	-----	-----	-----	-----	-----
217502_(Gonbut)	-----	-----	-----	-----	-----
CCU69810.1_(Gloce)	-----	-----	-----	-----	-----
CCU69811.1_(Gloce)	-----	-----	-----	-----	-----
CCU69816.1_(Gloce)	-----	-----	-----	-----	-----
1:416734-416958 (Parpa1)	-----	-----	-----	-----	-----
KY081664_(Parpa2)	-----	-----	-----	-----	-----
	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....
	360				
SAM01482.1_(Absgl)	-----	-----	-----	-----	-----
CDN67533.1_(Blatri)	-----	-----	-----	-----	-----
1338441_(Hesve)	-----	-----	-----	-----	-----
CDH60400.1_(Licco)	-----	-----	-----	-----	-----
126876_(Lichy)	-----	-----	-----	-----	-----
CDS03202.1_(Licra)	DVFLEDSSLV	M	-----	-----	-----
153347_(Mucci)	-----	-----	-----	-----	-----
AFA26123.1_(Mumu)	-----	-----	-----	-----	-----
ABX27909.1_(Phybl)	-----	-----	-----	-----	-----
CED81987.1_(Phyni)	-----	-----	-----	-----	-----
ADT91565.1_(Rhide)	-----	-----	-----	-----	-----
ADT91543.1_(Rhior)	-----	-----	-----	-----	-----
787907_(Mycafr)	-----	-----	-----	-----	-----
AET35419.1_(Syzme)	-----	-----	-----	-----	-----
347961_(Zyghet)	-----	-----	-----	-----	-----
241733_(Kircor)	-----	-----	-----	-----	-----
929090_(Zycmex)	-----	-----	-----	-----	-----
217502_(Gonbut)	-----	-----	-----	-----	-----
CCU69810.1_(Gloce)	-----	-----	-----	-----	-----
CCU69811.1_(Gloce)	-----	-----	-----	-----	-----
CCU69816.1_(Gloce)	-----	-----	-----	-----	-----
1:416734-416958 (Parpa1)	-----	-----	-----	-----	-----
KY081664_(Parpa2)	-----	-----	-----	-----	-----

### SexP

	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....
	10	20	30	40	50
416748 (Absrep)	-----MM	TSFLLRSTPH	PYRKIKSSKS	LSTLFPIHKL	SVHYTADTSF
188306 (Bacci)	-----	-MTNIRHTSQ	RILKPRVSKQ	SPLPIRIHRL	SFLYTEGTTQ
CDN67530.1 (Blatri)	-----MKY	IHKKKHFSSL	RSLKPKFKSL	MKATKIDTIA	FSCDNKGSTV
GAN10458.1 (Mucam)	-----MKA	RIHHKPILPI	RPLKPKSMLP	MQNLQIQSLs	FHHHPNGTTY
ADR69862.1 (Mucci)	-----MKA	RIHHKPILPV	RPLKPKSMLP	MQNLQIQSLs	FHHHPNGTTY
AFA26127.1 (Mumu)	-----MKT	SFYTKSSPVT	RQLRPKLDIP	KQTLsIQKLT	LSSNKEGKTF
CEP16807.1 (Parpa)	-----MKN	RIRPKRSCDI	RPLKPKSMLP	MKNLAIQSLs	FVQDNEGITL
ABX27914.1 (Phybl)	-----	-----	-----	-----	-----
CED81986.1 (Phyni)	-----MK	TKQVHHIPYQ	RPIKPRLQLA	P--TLsVQOI	SVIYIKGKTA
ADT91596.1 (Rhide)	-----	-----	-----	-----	-----
185490 (Rhimi)	-----MKQ	QVEKSPISPR	RQLKPKVSDN	SSKILPVDDL	LLlQEQQATS

# Ergebnisse und Auswertung

ADU04732.1 (Rhior)	-----MKD	QIHRSTVSFN	RYIKPKPVHK	PSKRLPIYGL	TFSFKQEETR
464294 (Thaele)	-----MKN	SLYSNSTPFI	RQLKPKVSFP	KKTLRIQNLS	FSSDLEGKTL
Synrac	-----TTRL	SRYNMMRKIL	SKSDEAESEK	HIYLQAFVSF	EICKQDEETG
875166 (Mycafr)	-----	-----	-----	-----	-----
AET35422.1 (Syzme)	-----MKE	LNQRTNLLPG	RKLKPRPLNT	PTKALNVESL	VLSHNQEHT
409715 (Zyghet)	-----MKK	AVYSRYTPLV	RKLKPKLTLP	KRALSIQNIS	FSNHEDGITF
KX966017 (Zygmo)	-----IKMKN	SYYPKSISLV	RKLKPKLTRS	TRAILIQDIT	FNNEQEGQTF
OBZ89248.1_ (Chocu)	-----	-----	-----	MKATKVEAIT	FSKDNKGSTI
591217_ (Phaart)	MRKTRSSHKR	LSRRPIFTSP	RPILPKKNST	IPSRSRPVQR	VSVIKHNNLV
..... .....  ..... .....  ..... .....  ..... .....  ..... .....					
	60	70	80	90	100
416748 (Absrep)	LTLNPSKISI	SATVFLTLIS	GNREFAKINS	-SHRVKRKDL	LLATESMIME
188306 (Bacci)	ILIHPSKILM	DSKQLLNMI	EKKDIILLEN	-GLCAFRKDI	FQATEAALEK
CDN67530.1 (Blatri)	LTIFPDGISI	NSRDVIRMIQ	ENSKEIFTS	-NTCILREEI	LGAIHSHPYN
GAN10458.1 (Mucam)	MTINPDLVTL	DSKELISMLE	EKRDRIEAGN	-NEYILGRDI	LTAIHKHPAK
ADR69862.1 (Mucci)	MTINPDLVTL	DSKELISMLE	EKRDRIEAGN	-NEYILGRDI	LTAIHKHPAK
AFA26127.1 (Mumu)	VTIYPSQVYI	TPKDLEIMIE	EKKESIPVKN	-NNCILRDDI	LYAIHNFASD
CEP16807.1 (Parpa)	MIKPNHITL	NSRELISMID	EKRDRIDAGN	-NAYILSKDI	LTAIHNNQTK
ABX27914.1 (Phybl)	-----	-----MVD	EKRDIYITVNT	-GSSVERKDL	FSAAESLLRK
CED81986.1 (Phyni)	LRIYPSQAFV	YARDLITMVD	EKRDIYITVNT	-GSSVERKDL	FSAAECLLRK
ADT91596.1 (Rhide)	-----	-----LDMID	SKNEFINLAN	SDFCIQKNDV	FSALQLYADE
185490 (Rhimi)	ILISPSNVRI	KAKDILCMVD	NRQDFITLPD	NGYCILRNDI	FSALHAHGDR
ADU04732.1 (Rhior)	IFIEPSNICI	KAKEILDMDI	SKNEFINLAN	SDFYIQKNDI	FSALQLYADE
464294 (Thaele)	IKIYPSQVLI	TSKELIEMIE	EKRESIQVEN	-STCVLRENI	LVAIHNFACE
Synrac	FKFQPGDTYF	SSKLLDILE	QGDAYQCFGN	-NVLVPTFLI	LRSIVTCLSK
875166 (Mycafr)	-----	-----MIE	KKSDRLEVAN	-DAYILRNEI	LEAIHNFISIQ
AET35422.1 (Syzme)	IIVYPSQVHV	KAKQLLDMID	NKTESIKLEN	TEFYLLKDDI	FSALQFYVTE
409715 (Zyghet)	VKIYPSQISI	SSRDLIEMIE	EKKDSIPVEE	-NTCVLREDI	LFVHNFPCD
KX966017 (Zygmo)	IKIYPSRVSI	SSKDLIQMIE	AKKESIPLN	-NDCILRKDI	LLAIQNPYPWG
OBZ89248.1_ (Chocu)	LTVFPGAVSI	QAKELINMVR	ENFNEIFIDG	-STCILREEI	LKAIHDYPSD
591217_ (Phaart)	CIQFHPKVLV	TIKELVMMTK	EGRD-HAIGM	YGENIQYNKV	LEATNMCLDD
..... .....  ..... .....  ..... .....  ..... .....  ..... .....					
	110	120	130	140	150
416748 (Absrep)	IDSKYDNQGV	KNSAD-----	-QNTMMTTPK	RPPNAFMLYS	SSLRKTIKRT
188306 (Bacci)	---VEDGPSK	IKNLS-----	-LPSSRSVPK	RPTNAFIIYR	NALRTRVKRI
CDN67530.1 (Blatri)	P-ECDTSEKT	TSINL-----	-ISNKIQEPR	RPSNAFIMYN	NEHRKKIKML
GAN10458.1 (Mucam)	SDNTDASGNG	NISNY-----	-HSSNLKEPK	RPANAFICYN	IALRKKVKTL
ADR69862.1 (Mucci)	SDNTDASGNA	NISNY-----	-HSSNSKEPK	RPANAFICYN	IALRKKVKTL
AFA26127.1 (Mumu)	E-NTTTPENH	ISDLT-----	-NTGQTTEPK	RPTNAFIIYR	TALRKKIKAL
CEP16807.1 (Parpa)	NDKTQACRND	DQRDL-----	-DAIKFNEPK	RPSNAFIFYN	NALRKKIREL
ABX27914.1 (Phybl)	QMCTESSSTG	VSISKQGENP	YQASPEQVPK	RPSNAFMIYS	ATLRKKRIKT
CED81986.1 (Phyni)	EIYPDNSSRD	EPMSTAQDKI	FRTSPEQMPK	RPSNAFMIYS	STLRKKIKST
ADT91596.1 (Rhide)	R--IPSETT	LTFTK-----	-INLNFQQPK	RPTNAFIIYR	SAWGKIVRVM
185490 (Rhimi)	Q--ADEHTAK	LFLMD-----	-INSDVSTSK	RPTNAFIIYR	TAWGKTVKSM
ADU04732.1 (Rhior)	R--IPSETT	LTFTA-----	-INLNSQQPK	RPTNAFIIYR	SAWGKVVRVM
464294 (Thaele)	E-DTSVPPIQ	GSVLS-----	-NVSPNVEAR	RPTNAFIIYR	TALRKKIKSL
Synrac	VTPTPTRRR	SSKTK-----	-----LLR	GASNSYMHFN	GFFRKIIITYA
875166 (Mycafr)	Y-CTAATDSN	EWNDL-----	-VEPLLSEPK	RPTNAFIIYR	STLRKKVKAL
AET35422.1 (Syzme)	S--IKFCDND	TIPIT-----	-IDLGFSEPK	RPTNAFIIYR	NALWGKVVRLM
409715 (Zyghet)	EGNSTLT-NH	DTKSS-----	-NTTQPSSEPK	RPTNAFIIYR	TALRKKVKTL
KX966017 (Zygmo)	QENQNQGGNH	NINSS-----	-TTTSASEPK	RPTNAFIIYR	SALRKKIKTL
OBZ89248.1_ (Chocu)	S-RYTVSEKS	VMSSS-----	-NPSKTHEPK	RPTNAFIIYR	NDHRKKIKML
591217_ (Phaart)	DLSQGRDFTL	LQQQN-----	-DKATNGTKK	RVLNGFILFR	SIHCKTLRKH
..... .....  ..... .....  ..... .....  ..... .....  ..... .....					
	160	170	180	190	200
416748 (Absrep)	FPEYDNDSDIS	KFLGIMWRS	NNNIKQKFIQ	QAYEERQRHK	---MQYPDFE
188306 (Bacci)	FPEFDNSQVS	KFLGAMWNA	SSEIKERYEV	LATECRRVHK	---EIYPDFE
CDN67530.1 (Blatri)	FPEFNNSEVS	KLLGAIWKS	I SNEVKEKYIR	RAVECRRIHK	---QKYPHFE
GAN10458.1 (Mucam)	FPNYSNSDVS	KIIGGMWKS	V GKSEKDKYIK	QAVQCRKRHK	---EKFPNFE
ADR69862.1 (Mucci)	FPNYSNSDVS	KIIGGMWKS	V GKSEKDKYIK	QAVQCRKRHK	---EKFPNFE
AFA26127.1 (Mumu)	FPSFNSDIS	KFTGAMWKA	A DKEVKEKYIK	QAMECRALHK	---QMYPNFE
CEP16807.1 (Parpa)	FPNYSNSDIS	KIIGGMWKS	V GSSEKDKYIK	KAIECRKLHK	---ERYPKFE
ABX27914.1 (Phybl)	FPEYDNDSDIS	KLLGAMWKNA	GAEVKKEYME	KANEVREWHK	---ERYPDYE
CED81986.1 (Phyni)	FPEYDNDSDIS	KLLGAMWKNA	GSDVKKEYME	KANEVREWHK	---ERYPDYE

# Ergebnisse und Auswertung

ADT91596.1 (Rhide)	FPEFNNSQVS	KLLGAMWKWS	SKQLKEKYIQ	QADMYRKAYK	---EKYPNHV
185490 (Rhimi)	FPEFNNSQIS	KILGAMWKWS	DNQVKDKYIQ	RANEYRKVHK	---EKCPNFV
ADU04732.1 (Rhior)	FPEFNNSQVS	KLLGAMWKWS	SKQLKEKYIQ	QADMCRKAYK	---EKYPNHV
464294 (Thaele)	FPSFSNSDIS	KFTGAMWKAA	DKEVKDKYVK	QAMECRILHK	---QMYPDFE
Synrac	IPEYRPSDVS	KLIAALWRAS	SQETKTIFQR	KAEQQKLIWK	DLESKYPNIS
875166 (Mycafr)	FPKYTNCEAS	KFLGAMWKSI	NKDIKDSYIK	QAIECRRLHK	---LKYPNFE
AET35422.1 (Syzme)	FHEFNNSQIS	KLLGAMWKWS	STKSKQKYIQ	QAEECRKIYK	---EKFPNHV
409715 (Zyghet)	FPSFSNSDVS	KFIGAMWNAA	NKEVKEKYVK	QAMECRELHK	---QKYPNFE
KX966017 (Zygmo)	FPSFNNSDIS	KFIGAMWKAA	NKEVKEKYIK	RASECRILHK	---QRYPNFE
OBZ89248.1_ (Chocu)	FPEFNNSEVS	KLLGAIWKSI	GSEVKDTYIR	KAIECRKIHK	---QKYPHFE
591217_ (Phaart)	LPDISNGEIS	TFLSQAWNAA	SKEIKDKYAA	DAIRLCNQNS	---SSNHFCs
..... .....  ..... .....  ..... .....  ..... .....  ..... .....					
	210	220	230	240	250
416748 (Absrep)	YNMPKNLSIS	GMSLQGGSEN	IQDDGAWFEE	IQQFIQQTEN	FGDTPYSSLD
188306 (Bacci)	YNPKREALSS	SETLFQELQA	RDENSSMN-Y	SLFLNDLSQN	GITDGLMLIP
CDN67530.1 (Blatri)	YNLKRNLFAH	--NSSSTIND	HSDNWDDYFD	WCFENTST-Q	SACGIIQSSH
GAN10458.1 (Mucam)	YNIRREATFN	-FEDYSGLOT	-ANDWERYLD	WCIONFTT-E	ASVGALQYN-
ADR69862.1 (Mucci)	YNIRREATFN	-FEDYSGLOT	-ANDWERYLD	WCIONFTT-E	ASVGALHYN-
AFA26127.1 (Mumu)	YNIKKETSDQ	AASVSQNQDL	SGDRWDNYLD	QCLQNATM-E	FFNEN-HSIG
CEP16807.1 (Parpa)	YNIRRDGTIN	CTKIFDSKKK	-ANNWENYFD	WCLQNSTT-E	SSAGVLQYS-
ABX27914.1 (Phybl)	YNSRKQSTKE	RDSMPRTDFS	NQDFITADDE	WIRQLNDLLS	QNPM TALHGS
CED81986.1 (Phyni)	YNSRK-TPKG	RDSLIRMDLP	STNFMASEDE	WIGQLNALLS	QNSATSL LTD
ADT91596.1 (Rhide)	YNTKKVERSN	AIHLLSCKNF	GNDCCSSWS--	-----	-----
185490 (Rhimi)	YNAKRVDKNK	QVSATDDHHF	EYNYPDLELQ	GSMVNQLVHS	GTTNDNQ TAY
ADU04732.1 (Rhior)	YNTKKVERSN	VIHLLSCKNS	EIDCCSSWSHQ	DNMLQPSTTD	SFIDDFRITF
464294 (Thaele)	YNAKKERSEK	AVTDGEDYSF	LNDNWDEYFS	WCIONATT-G	IVTEEAHTLD
Synrac	LSKRYKRRNG	RFVDQSLDND	LRNERTKNGN	GLALFCGVSS	DDNVEDYIAM
875166 (Mycafr)	YNIKKETNTG	--KAISSLQD	-SPTDSTSID	YNVDLIMCGP	NIVDGIQLDG
AET35422.1 (Syzme)	YNPRKRNESK	KSSVDSYMSF	EYNCQSSD--	---ILYHSND	RIFDN-----
409715 (Zyghet)	YNVKKENV DQ	NVSNCEQYSV	MSDNWDSYFD	WCLQNAAM-A	VVSNNIPGEL
KX966017 (Zygmo)	YNIKKENVEN	AASNEQYYSI	SDDWESYFD	WCIONATV-A	AVDNGIRAND
OBZ89248.1_ (Chocu)	YNLKRGLFAQ	--KEPSTISTN	HSENWDDYFN	WCLENVST-Q	SASGMIREDN
591217_ (Phaart)	DNQIDNVIEY	TLISEELQLP	VCGYYDEFTN	DDILRDIPMF	APSEYTVQPT
..... .....  ..... .....  ..... .....  ..... .....  ..... .....					
	260	270	280	290	300
416748 (Absrep)	KMEKDAIELL	NSISDDNEPN	NNNFECLPNL	QWIN-----	-----FS
188306 (Bacci)	DINEVIEDTF	LSTSGDYDID	VPLPDPTLRC	NENC-----	-----CS
CDN67530.1 (Blatri)	SVGPNASKPI	EET-----	-EIHFNSELD	-----	-----P
GAN10458.1 (Mucam)	--NELKINST	STQWQTSAME	PQFECAKFNG	-----	-----NT
ADR69862.1 (Mucci)	--NELMINST	SAQWQTSAME	PQFECAQYNG	-----	-----NT
AFA26127.1 (Mumu)	--DLKNDQGS	SNWIDNVS--	PNVISVNSNN	-----	-----LL
CEP16807.1 (Parpa)	--HESLIDPS	-----	-NLTCASVND	-----	-----FF
ABX27914.1 (Phybl)	SQENFAIDYT	STP-----	-YFISSPSND	-----	-----I
CED81986.1 (Phyni)	TQEDMAIDFS	SLP-----	-GFYSPPSNE	-----	-----M
ADT91596.1 (Rhide)	-----	-----	-----	-----	-----
185490 (Rhimi)	VSSSNFCSSN	NYSGFTQKQN	IATASDTS--	-----	-----
ADU04732.1 (Rhior)	LSKKVFNGSM	LDLSGFQACP	NPTVPDIP--	-----	-----
464294 (Thaele)	GTNLMSNHVD	WNNLNNLNNL	NNLNNLNNLN	NLNNLNTSTR	EGPFALESLL
Synrac	SLATVSCDTK	TN-----	-----	-----	-----
875166 (Mycafr)	IPDHLYFTDS	-----	---YFEQLTE	-----	-----SH
AET35422.1 (Syzme)	-----FQSNN	FCLNSHQVYN	NPIISDIS--	-----	-----
409715 (Zyghet)	DSKTASMHLs	WSNFNSDF--	-NVDLSNSEN	-----	-----WT
KX966017 (Zygmo)	DSR-NTLHPF	WHTVDSNA--	-ITGSLDPNG	-----	-----LL
OBZ89248.1_ (Chocu)	LAGLEVAEAN	EQM-----	-EIHFNPDAR	-----	-----L
591217_ (Phaart)	YDPNDALNTG	QLSMLQLVQL	VNSSFDTINN	-----	-----S
..... .....  ..... .....  ..... .....  ..... .....  ..... .....					
	310	320	330	340	350
416748 (Absrep)	PMEEMDTNSW	RDMCNSVSL	FPEGSDHML	DCPY-----	-----
188306 (Bacci)	TEGLPDSSEW	NLLCNIVTDL	FPESLEQSQL	IDEMLWSSLE	NMEQYQHTDG
CDN67530.1 (Blatri)	FAEGKSQENW	EEVYKIESL	FPEDDLKNTF	LDEQLWSSLD	QFTVFEENDN
GAN10458.1 (Mucam)	SQNLQVSSEW	NEVCHIVSRF	FPGASDQNET	MDEQFWRSLD	NFDLLNDLSI
ADR69862.1 (Mucci)	SQNLQVSSEW	NEVCHIVSRF	FPGASDQNET	MDEQFWRSLD	NFDLLNDLSI
AFA26127.1 (Mumu)	FEGYQESNEW	KEVCNIVSQF	FPEDSDQNTL	MDDKLWASLG	GMDLIIDKGY
CEP16807.1 (Parpa)	SQELQISGEW	NEVCQLVSHF	FPGDTDQNEL	VDEQFWKSLD	DVDFLADLSV

## Ergebnisse und Auswertung

ABX27914.1 (Phybl)	SLGDLKLEEW	QDFCNNWTEH	DSRYLDQN-F	LDESFWARF-	-----
CED81986.1 (Phyni)	ASGDLKIEEW	QNMVNGVTDF	DLRYSDQNVL	LDESFWARF-	-----
ADT91596.1 (Rhide)	-----	-----	-----	-----	-----
185490 (Rhimi)	-----NNEW	QKVCNVLVDI	LSSGISEDVS	VDDQYWDILQ	NVDLEQSFFC
ADU04732.1 (Rhior)	-----NNEW	EKVCNVLVDI	LPNSTIEDKF	VDNQFWDVSFQ	DANISQDFLS
464294 (Thaele)	GEQYHESNEW	REVCNVMNQF	FPEDSDQNTV	IDDKLWVNIG	GTELFNTEDI
Synrac	-----DEEE	IGCENVLMAN	NNQDSNASNA	CQIMSWVDSW	NAWEWQSNEV
875166 (Mycafr)	PQSVSND-GW	NEVHNLIASF	FPTDIDQNLV	IDDEFWTSLA	SEGNTPKLGT
AET35422.1 (Syzme)	-----NNEW	EKVCNIISEI	LPNSTVDD--	--DQLWASFQ	SSDFSKNLT-
409715 (Zyghet)	IDNYQGSNEW	NEVCNIVSEF	FPEDSDQNTL	IDDKLWASLG	GIDLMAADEC
KX966017 (Zygmo)	MSEYQRLDEW	SEVCNIVAEF	FPEDSDQNAL	IDDKLWTSLG	GIDLVANYNF
OBZ89248.1 (Chocu)	CIEKNSQESW	EEVYNIISNL	LPEEDSRNTF	FDEQLWGLSD	QITVFNETDS
591217_ (Phaart)	NICNFTAASD	PDIFQNMVNY	LSMDDGTKNV	SNEVMNSVFA	YQQSNQNSNS
		.... ....	.... ....	.... ....	..
		360	370	380	
416748 (Absrep)	-----	-----	-----	-----	--
188306 (Bacci)	FNDSNNGNYF	EIFDSIEYNN	NITEQEGNNL	GF	
CDN67530.1 (Blatri)	DFLRFS----	-----	-----	-----	--
GAN10458.1 (Mucam)	GSSPNLRESL	NE-PQFYS--	-----	-----	--
ADR69862.1 (Mucci)	GPSPNLSRA	SMSPRFYS--	-----	-----	--
AFA26127.1 (Mumu)	ELPSYIEDNE	NSH-----	-----	-----	--
CEP16807.1 (Parpa)	NSSGIHNISK	TNDTK-----	-----	-----	--
ABX27914.1 (Phybl)	-----	-----	-----	-----	--
CED81986.1 (Phyni)	-----	-----	-----	-----	--
ADT91596.1 (Rhide)	-----	-----	-----	-----	--
185490 (Rhimi)	SDWAAAVNLN	QS-----	-----	-----	--
ADU04732.1 (Rhior)	ESMTLNQVQ-	-----	-----	-----	--
464294 (Thaele)	SSASYFELNQ	LGPFEFR--	-----	-----	--
Synrac	DLVSWSRAS	D-----	-----	-----	--
875166 (Mycafr)	TISAMNNYTL	-----	-----	-----	--
AET35422.1 (Syzme)	-----	-----	-----	-----	--
409715 (Zyghet)	GTLSEYFENNV	IGYMEEGK--	-----	-----	--
KX966017 (Zygmo)	ESAPNFEDTV	IGSSGESM--	-----	-----	--
OBZ89248.1 (Chocu)	DFIRFS----	-----	-----	-----	--
591217_ (Phaart)	TTPNYFLDQV	DSNDSIFNNS	FHQ-----	-----	--

Abb. 63: ClustalW Alignment der SexM und SexP Sequenzen mit konservierten HMG-Domänen (IPR009071) in Mucorales. Die Proteinsequenzen, die für den phylogenetischen Baum (Abb. 62) verwendet wurden, sind grau markiert.

## 6 Diskussion

### 6.1 Charakterisierung der Entwicklungsmutanten

Im Rahmen dieser Arbeit wurden nach UV-Mutagenese sieben Mutanten des homothallischen Zygomyceten *Zygorhynchus moelleri* isoliert, die einen Defekt in der sexuellen Entwicklung zeigen. Dabei ist nicht vollkommen auszuschließen, dass die vorgestellten Mutanten nicht doch mehr als eine Mutation aufweisen. Einige der Mutanten sind nicht völlig in ihrer sexuellen Morphogenese geblockt und bilden einige sexuelle Vorstufen oder abnormale (A-)Zygosporen (Schulz und Wetzels, 2016).

Untersuchungen der Mutanten in Bezug auf Parasexualität mit *Parasitella parasitica* ergaben keine Unterschiede. Beide Kreuzungstypen von *Parasitella parasitica* waren in der Lage, mit sowohl dem Wildtyp als auch den Mutanten von *Zygorhynchus moelleri* parasitische Sikiyosporen zu bilden. Der parasexuelle Mechanismus scheint im Hinblick auf die Erkennung der Partner daher nicht vollständig dem sexuellen Mechanismus zu entsprechen. Dies ist insbesondere insofern bemerkenswert, als in den untersuchten Interaktionen mit *Parasitella parasitica* die Erkennung über die Trisporoid-Pheromone der sexuellen Kommunikation entspricht.

Zwei der Mutanten, UV139 und UV542, sind in einem sehr frühen Stadium der Zygosporogenese blockiert. UV139 bildet nur noch Zygophoren, die im Gegensatz zum Wildtyp sehr stark verzweigt sind. Dieses leiterartige Zygophoren-Muster wurde schon für die homothallische *Absidia spinosa* beschrieben (Blakeslee, 1915; Nielsen, 1959). Das Muster kommt zustande, wenn eine laterale Zygophore keine terminale Zygophore zur weiteren sexuellen Interaktion findet. Die laterale Zygophore entwickelt sich dann zu einer erneuten terminalen Zygophore, die sich zu einer weiteren lateralen Zygophore verzweigt. Dies lässt den Schluss zu, dass UV139 entweder eine Mutation im Mechanismus des Zygotropismus trägt, der über das Trisporoid-Pheromon-System vermittelt wird, oder die Zelloberflächen-Erkennung beziehungsweise die Adhäsion der Zygophoren, die für die Weiterentwicklung zu Progametangien unabdingbar ist, in irgendeiner Form beeinflusst wurde. Ein anderer Grund für die Blockierung im Zygophoren-Stadium kann darin bestehen, dass die für *Zygorhynchus moelleri* beschriebene (+)- beziehungsweise (-)-Identität der Seitenäste beeinträchtigt wurde (Schulz und Wetzels, 2016). Da das Trisporoid-Muster von UV139 nachweislich keinen Unterschied zum Wildtyp aufweist, ist eine Mutation im direkten Pheromonsyntheseweg

nahezu auszuschließen. Dennoch basieren die Trisporoidanalysen der Mutanten auf einen späteren Endpunkt. Die individuellen Substanzen bzw. deren Konzentration könnten somit auch während des Differenzierungsweges soweit verschoben sein, dass es zur Ausprägung anderer Phänotypen kommen kann. Eine Mutation in den bisher unbekannten Rezeptoren der Trisporoide wäre zudem denkbar.

UV542 bildet ebenfalls abnormal verzweigte Zygothoren im Luftmyzel aus, die Nest-ähnlich angeordnet sind. Zusätzlich ist diese Mutante in der Lage, sexuelle Vorstufen zu bilden. Die Hyphen von UV542 sind meist hyperseptiert. Aufgrund der Tatsache, dass Zygomyceten normalerweise ein syncytiales Myzel bilden und nur in unmittelbarer Nähe zu sexuellen und asexuellen Strukturen septiert sind, kann dieser Phänotyp als Besonderheit von UV542 angesehen werden. Im Wildtyp von *Zygorhynchus moelleri* gibt es ebenfalls einige stark septierte Hyphenabschnitte mit bis zu elf Septen (Green, 1927). In dem von uns verwendeten Wildtyp-Stamm FSU531 konnten generell nur bis zu vier nebeneinanderliegende Septen beobachtet werden. Die beiden beschriebenen Defekte von UV542 können ohne Weiteres das Ergebnis einer einzigen Mutation sein (Schulz and Wetzel, 2016). In *Aspergillus nidulans* führt zum Beispiel die Deletion des *parA*-Gens sowohl zu Hyperseptierung als auch zur Störung in der sexuellen Ascus-Entwicklung (Zhong et al., 2014).

Die beiden Mutanten UV44 und UV48 wurden aus zwei voneinander unabhängigen Mutagenese-Experimenten isoliert und sind folglich unabhängig entstanden. Beide Mutanten sind in der Ausbildung der Septen blockiert, die die beiden Gametangien von den Suspensoren trennen. Weil sowohl UV44 als auch UV48 generell in der Lage sind, Septen zu entwickeln, scheint es so, als wenn nur die Bildung des Gametangien-Septums selbst beeinträchtigt wurde (Schulz und Wetzel, 2016).

In UV554 fusionieren die Gametangien nicht zu einer Zygosporangie, weshalb hier eventuell die Synthese oder die Aktivität Zellwand-degradierender Enzyme, die zur Fusion nötig sind, beeinträchtigt sein kann (Schulz und Wetzel, 2016).

In UV44, UV48 und UV554 tragen meist ein oder beide (Pro)Gametangien und Suspensoren die für Zygosporangien typische, warzenartigen und hellbraunen Oberflächenstrukturen. Diese drei Mutanten bilden manchmal abnormale Zygosporangien.

UV112 bildet zum Teil zellwandlose Zygosporangien aus. Die Zygosporangienwand von Zygomyceten besteht aus mehreren Schichten weitgehend noch immer unbekannter

chemischer Struktur. Die Entwicklung der Zygosporenzellwand wurde für *Rhizopus sexualis* untersucht (Hawker und Gooday, 1968). Das dunkelbraun bis schwarze Pigment ist höchstwahrscheinlich Sporopollenin. Dies wurde zumindest für *Mucor mucedo* beschrieben (Gooday et al., 1973).

Die Mutante UV112 zeichnet aus, dass in vielen Fällen aus dem Makrosuspensor eine Hyphe wächst, die wiederum entweder eine weitere sexuelle Struktur oder ein Sporangium trägt. Die Bildung sexueller Strukturen aus einem Makrosuspensor ist für den verwendeten Wildtyp-Stamm selten beobachtet worden (Stalpers and Schipper, 1980). Dagegen wurde nie gefunden, dass im Wildtyp-Stamm ein Sporangium aus einer sexuellen Struktur wächst (Schulz und Wetzels, 2016). Dies wurde jedoch für die Gattung *Zygorhynchus* von Ling-Young (1930) beschrieben. Nichtsdestoweniger ist die beschriebene Sporangienbildung ein häufig auftretendes Merkmal von UV112, allerdings durchaus nicht vom korrespondierenden Wildtyp. Es ist wahrscheinlich, dass der Wechsel von sexueller zu asexueller Entwicklung in UV112 beeinflusst ist. In Ascomyceten wie *Neurospora crassa* koordiniert der Velvet-Komplex sowohl die asexuelle als auch sexuelle Morphogenese (Bayram et al., 2008a; Bayram et al., 2008b). In Zygomyceten konnten ebenfalls zu Velvet homologe Proteine gefunden werden (Bayram und Braus, 2012).

## **6.2 Lichtabhängigkeit der asexuellen Sporangiosporogenese**

Während mikroskopischer Untersuchungen fiel auf, dass die Entwicklungsmutanten im Licht mehr Sporangien bilden als im Dunkeln. Für verschiedene Mucorales, etwa *Phycomyces blakesleeana*, *Mucor circinelloides*, *Pilobolus crystallinus* und *Syzygites megalocarpus*, wurde die lichtabhängige Bildung asexueller Sporen bereits beschrieben (Corrochano und Cerdá-Olmedo, 1992; Kubo und Mihara, 1986; Nicolás et al., 2008; Wenger und Lilly, 1966).

Im Gegensatz zu den Mutanten zeigt der Wildtyp keine solche lichtabhängige Sporulation. Green (1927) zeigte bereits, dass keine Unterschiede in den Sporangienzahlen in Abhängigkeit der Kultivierungsbedingungen auftreten. *Zygorhynchus moelleri* ist also normalerweise nicht durch eine lichtabhängige asexuelle Entwicklung gekennzeichnet. Da es nicht hinreichend bekannt ist, dass UV-Mutagenese selbst eine solche Lichtabhängigkeit induzieren kann, wird vermutet, dass im Wildtyp zwar eine Art Lichtabhängigkeit in der Sporenbildung existiert, diese jedoch aufgrund

der starken sexuellen Aktivität auf Induktionsmedium und somit reduzierter freier Kapazität für asexuelle Strukturen nicht direkt beobachtbar ist.

Die Mutanten wurden durchweg primär auf sexuelle Defekte gescreent, was dazu führt, dass es im Myzel viele freie Stellen für potentielle Sporangien gibt. Eine versteckte lichtabhängige Sporulation von *Zygorhynchus moelleri* könnte somit sichtbar gemacht werden (Schulz und Wetzel, 2016).

### **6.3 Akkumulation von $\beta$ -Carotin in UV139 und UV542**

Die beiden Mutanten UV139 und UV542 akkumulieren  $\beta$ -Carotin. Die Akkumulation ist in UV542 unabhängig von den vorherrschenden Lichtbedingungen während der Kultivierung. Dies lässt den Schluss zu, dass UV542 entweder im *tsp3* Gen für die Carotinoxigenase, die den ersten Schritt des  $\beta$ -Carotin-Abbaus katalysiert, oder in dessen Regulation beeinträchtigt ist. Es könnten ebenfalls Enzyme des  $\beta$ -Carotin-Biosyntheseweges hochreguliert sein. Die Transkription von *carB* und *carRA(RP)* wird über Trisporoide und Blaulicht erhöht (Velayos et al., 2000a; Velayos et al., 2000b; Velayos et al., 2003). Das *crgA* Gen kodiert für einen Carotin-Biosynthese-Regulator, Da  $\Delta$ *crgA* Mutanten von *Mucor circinelloides* größere Mengen von  $\beta$ -Carotin unabhängig von Lichteinflüssen akkumulieren, wäre auch ein Defekt im *crgA* oder *mcwc-1b* Gen denkbar (Navarro et al., 2001). Die  $\Delta$ *crgA* Mutanten von *Mucor circinelloides* sind zudem nicht mehr fähig, mit dem komplementären Kreuzungspartner zu interagieren (Sahadevan, 2013).

Im Gegensatz zur lichtunabhängigen Carotin-Akkumulation von UV542 reichert UV139 dieses Pigment überwiegend in Dunkelheit an. Interessanterweise wird die Bildung von  $\beta$ -Carotin in anderen Mucorales, *Phycomyces blakesleeanus* und *Mucor circinelloides* durch Licht induziert. Im Gegensatz dazu akkumulieren Einzel- und Kreuzkulturen von *Blakeslea trispora* im Dunkeln sehr hohe Carotin-Mengen (Quiles-Rosillo et al., 2005; Sutter, 1970), was für einen weiteren Regulationsmechanismus der Biosynthese spricht.

### **6.4 Methionin ist an der sexuellen Entwicklung von *Zygorhynchus moelleri* beteiligt**

UV127 wurde ursprünglich als sexuell defekte Entwicklungsmutante isoliert. Weitere Untersuchungen führten zu der Erkenntnis, dass diese Mutante pleiotrop ist, nämlich



zusätzlich eine Methionin-Auxotrophie besitzt. Die morphologischen Defekte von UV127 können durch Zugabe von hohen Methioninkonzentrationen supplementiert werden. Geringere Methioninkonzentrationen haben dagegen einen starken Effekt auf die sexuelle und asexuelle Entwicklung der Mutante.

UV127 zeigt diverse Defekte in der Morphologie, wie die fehlende Columella in differenzierten Sporangien und rotbraune Zygosporen mit veränderter Ornamentierung. Dass diese Veränderungen auf geringe Methioninkonzentrationen zurückzuführen sind, weist auf die Notwendigkeit von Methylierungen oder Methionin selbst für sexuelle und asexuelle Entwicklungsprozesse von *Zygorhynchus moelleri* hin.

Die beobachteten, “struppigen”, langen Warzen in der Zygosporenornamentierung von UV127 sind für *Zygorhynchus* untypisch. Normalerweise trägt die Zygospore eine Oberfläche mit strukturierten, in einem Muster angeordneten, zusammenklebenden Warzen (O’Donnell et al., 1978). Da in der Zellwand von *Zygorhynchus vuilleminii* Methionin gefunden wurde, kann bei UV127 durchaus die Zellwandsynthese blockiert sein (Crook und Johnston, 1962).

Fischer et al. (2001) isolierten eine zunächst ebenfalls für sexuelle Defekte gescreente Mutante des heterothallischen Basidiomyceten *Ustilago maydis*, die sich als Methionin-Auxotrophe herausstellte. Andere, zum Beispiel im Schwefel-Metabolismus auxotrophe Mutanten von *Ustilago maydis*, die mit Methionin oder Cystein supplementiert werden können, zeigen dagegen keinerlei sexuelle Defekte (Fischer et al., 2001). Die sexuellen Defekte der Methionin-auxotrophen Mutante MIM114 konnten gleichermaßen durch Zugabe von Methionin auch morphologisch supplementiert werden. Es wurde gezeigt, dass nicht die Aminosäure selbst, sondern eine Veränderung in der Synthese des davon abgeleiteten Methylgruppen-Donors, S-Adenosylmethionin, für das Kreuzungsverhalten von *Ustilago maydis* verantwortlich ist.

Im Ascomyceten *Aspergillus nidulans* ist ein zum Gen für DNA-Methyltransferase homologes Gen (*dmtA* und das korrespondierende Antisense-Transkript *tmdA*) für die sexuelle Entwicklung essentiell (Lee et al., 2008). In *Neurospora crassa* wird die Perithezien-Entwicklung infolge einer Zugabe des Methyltransferase-Inhibitors 5-Azacytidin gehemmt (Kritsky et al., 2002).

5-Azacytidin hemmt die Zygosporogenese sowohl im Wildtyp von *Zygorhynchus moelleri* als auch in der Mutante UV127. Auch Ethionin, das als kompetitiver Inhibitor

der SAM-abhängigen Methyltransferase fungiert, beeinflusst die Zygosporienbildung der mit Methionin supplementierten Mutante UV127 negativ. Allerdings hat die Zugabe von Ethionin keinen Einfluss auf die sexuelle Entwicklung des Wildtyps von *Zygorhynchus moelleri*. Dies könnte damit erklärt werden, dass der Wildtyp bereits beim Transport Methionin präferiert und somit Ethionin als solches nicht oder nur kaum aufnimmt.

Die Entwicklungsdefekte von UV127 könnten somit auf DNA-Methylierung beziehungsweise der Störung dieses Prozesses zurückzuführen sein.

Im Gegensatz dazu sind für die ebenfalls als Methionin-auxotrophe Mutante RVII-324 mit dem heterothallischen Zygomyceten *Absidia glauca* keine sexuellen und asexuellen Defekte beschrieben (Burmester et al., 2013; Kellner et al., 1993; Wöstemeyer et al., 1990). Da die Zygosporienbildung von *Absidia glauca* nicht durch 5-Azacytidin gehemmt wird, scheinen hier andere Mechanismen zugrunde zu liegen.

## **6.5 Polyamine und Transglutaminasen sind für die sexuelle Interaktion von Mucorales unerlässlich**

Polyamine sind für die Proteinsynthese und das Zellwachstum von Eukaryonten essentiell. Polyamine werden für die Sporenkeimung von *Aspergillus nidulans* und *Neurospora crassa* und die Ascosporen-Keimung von *Saccharomyces cerevisiae* benötigt (Ruiz-Herrera, 1994). Der Blick auf die Biosynthesewege legt nahe, dass Polyamine mit der Methylierung von DNA in Mucorales in Verbindung gebracht werden können. Dieser Mechanismus ist jedoch noch unbekannt. Spermidin ist für die posttranslationale Modifikation und Aktivierung des Initiationsfaktors der Translation eIF-5A erforderlich. EIF-5A ist dabei generell für die Proteinsynthese und damit einhergehend das Zellwachstum unerlässlich (Park, 2006).

Die Zugabe von Inhibitoren der Polyamin-Synthese unterdrückt sexuelle Entwicklung. Dieses Phänomen lässt sich auch für *Zygorhynchus moelleri* beobachten. Hier erzielt die Zugabe des Ornithindecaboxylase-Inhibitors Diaminobutanon eine Minderung der Zygosporienbildung. Ähnliche Effekte wurden für den heterothallischen Zygomyceten *Absidia glauca* beobachtet (persönliche Mitteilung Dr. Jürgen Voigt, dieser Lehrstuhl). Die Effekte auf Polyamin-Inhibitoren können dabei indirekt, durch Wachstumshemmung auftreten. Dies lässt sich über die verzögerte Zugabe des Inhibitors relativieren.

Im Umkehrschluss fördert eine Zugabe von Polyaminen fördert die Zygosporogenese im homothallischen Zygomyceten *Zygorhynchus moelleri*. Obwohl nur die beiden Polyamine Spermidin und Putrescin und deren Synthese-Gene in filamentösen Pilzen wie Mucorales nachgewiesen wurden, reagiert *Zygorhynchus moelleri* auch auf die externe Zugabe von Spermin (Nickerson et al., 1977). Dass die externe Zugabe von Polyaminen zur sexuellen Stimulation filamentöser Pilzen führt, wurde zum Beispiel für die Cleistothecien-Bildung von *Aspergillus (Emericella) nidulans* gezeigt (Guzmán-de-Peña et al., 1998).

Polyamine sind also höchstwahrscheinlich in die sexuelle Interaktion von Zygomyceten involviert.

Fluoreszenz-Experimente mit FITC und Kopplung des Farbstoffes AMCA (7-Amino-4-methyl-3-coumarinyl-Essigsäure) mit EDAC (N-(3-Dimethylaminopropyl)-N'-ethylcarbodiimid) an die Zellwand zeigten eine asymmetrische Fluoreszenzreaktion der Strukturen sexueller und parasexueller Interaktionen von Zygomyceten (Schulz et al., 2016b). Dies deutet auf eine unterschiedliche Verteilung von Oberflächenkomponenten während der Fusion der kompatiblen Kreuzungspartner. Für *Absidia glauca* wurde bereits ein für den (+)-Kreuzungstyp spezifisches Oberflächenprotein nachgewiesen. In artifiziellen, mit der Protoplastenfusion erzeugten, homothallischen Derivaten von *Absidia glauca* ist die Expression dieses Oberflächenproteins stark unterdrückt (Hänfler et al., 1992; Teepe et al., 1988; Wöstemeyer et al., 1990).

Die Visualisierung intrazellulärer oder membrangebundener Calcium-Ionen mit Chlortetracyclin ergab ebenfalls eine Asymmetrie in der Fluoreszenz beider Gametangien beziehungsweise Progametangien. Die asymmetrische Fluoreszenz nach der Färbung freier Calcium-Ionen kann mit der calciumabhängigen Transglutaminase-Aktivität begründet werden.

Polyamin-konjugierte Polypeptide wurden sowohl auf der Zelloberfläche als auch in intrazellulären Kompartimenten gefunden. Während des Wachstums von *Candida albicans* konnte extrazelluläre, Zellwand-gebundene Transglutaminase-Aktivität gemessen werden (Chaffin et al., 1998). In Mucorales haben wir Transglutaminase-ähnliche Gene (IPR002931) gefunden.

Da Transglutaminasen an der post-translationalen Modifikation intra- und extrazellulärer Proteine über Konjugation mit Polyaminen involviert sind, wurde eine mögliche

Beteiligung von Transglutaminasen an der sexuellen Entwicklung vom Zygomyceten untersucht.

Transglutaminasen können durch Zugabe von Cystamin gehemmt werden. Cystamin ist ein Diamin, das von den selben Transportern aufgenommen werden kann wie die Polyamine Spermin, Spermidin und Putresin (Alcock et al., 2011). Cystamin inaktiviert die Transglutaminase durch eine Modifikation des Cystein-Restes im aktiven Zentrum. Dabei wird die calciumabhängige Protein-Vernetzung der Transglutaminase gehemmt. Die Zugabe des Transglutaminase-Inhibitors führte zur Verminderung der sexuellen Zygosporienbildung.

Während der sexuellen Interaktion von *Zygorhynchus moelleri* beziehungsweise *Absidia glauca* wurde tatsächlich eine asymmetrische intr- und extrazelluläre Transglutaminase-Aktivität der Gametangien nachgewiesen werden. Polyamin-konjugierte Polypeptide scheinen also im Verlauf der Gametangienfusion akkumuliert zu werden.

## **6.6 Der sex-Locus homo- und heterothallischer Zygomyceten**

Die *sex*-Loci der Mucorales wurden ursprünglich über die HMG-Domänen-Proteine und die vorherrschende Syntanie der Gene *tptA*, *algL*, das HMG-Domänen-Protein und *rnhA* am Kreuzungstyp-Locus definiert (Camino et al., 2015; Gryganskyi et al., 2010; Idnurm, 2011; Idnurm et al., 2008; Wetzel et al., 2012). Die Analyse der *sex*-Loci einer breiteren Vielfalt sowohl heterothallischer als auch homothallischer Zygomyceten ergab, dass in Bezug auf die erwähnte Syntanie ein Umdenken stattfinden muss (Schulz et al., 2016a). Die Kreuzungstyp-Loci der Mucorales ähneln sich zwar untereinander im Aufbau, dennoch wird die Syntanie oft mit anderen Genen unterbrochen oder ist etwa bei den Lichtheimiaceae völlig aufgehoben.

### **6.6.1 Die Gene *sexM* und *sexP* für HMG- Transkriptionsfaktoren**

Die evolutionär jüngeren Basidiomyceten und Ascomyceten kodieren für Proteine mit anderen Domänen am *Mat*-Locus. Ascomyceten tragen am 1-6 kb großen *Mat*-Locus bis zu drei idiomorphe Gene, die für Homöobox-, HMG- und  $\alpha$ -Domänen-Proteine kodieren. Die *Mat*-Loci der Basidiomyceten sind bis zu 100 kb lang und können bis zu 20 Gene beinhalten, wovon einige für Transkriptionsfaktoren mit einer Homöobox-Domäne kodieren (Dyer, 2008; Fraser et al., 2004). Um die Evolution der sexuellen Determination

nachvollziehen zu können, ist es hilfreich, die *sex*-Loci aller Pilzgruppen miteinander zu vergleichen.

Die am *sex*-Locus liegenden HMG-Domänen-Proteine SexM und SexP der Zygomyceten wurden ursprünglich als Homologe definiert und zeigen eine 36 %ige Sequenzähnlichkeit in den konservierten Bereichen (Idnurm et al., 2008).

Die Analyse der Protein-Alignments der konservierten HMG-Domänen in SexM und SexP diverser homothallischer und heterothallischer *Mucor*-verwandten Spezies zeigt, dass *sexM* höchstwahrscheinlich polyphyletisch entstanden ist. SexP kann aufgrund der ähnlichen Sequenz in allen Mucorales als basaler Transkriptionsfaktor, der eventuell in die sexuelle Entwicklung involviert ist, bezeichnet werden. Die starken Sequenzunterschiede von *sexM* deuten darauf hin, dass SexM eher speziesspezifisch ist (Schulz et al., 2016a). Aufgrund der starken Sequenzunterschiede von SexM und SexP wäre eine Definition beider Gene als Idiomorphe denkbar.

Die Identität der Kreuzungstypen in Mucorales wurde früher über intra- und interspezifische Kreuzungen der Stämme untereinander festgelegt und bestimmt. Interspezifische Kreuzungen oder wenigstens die Ausbildung früher sexueller Differenzierungsstadien zum Beispiel mit einem *Mucor*-Stamm sind durchaus nicht unüblich, was darauf schließen lässt, dass die Transkriptionsfaktoren auf dieser Ebene kein speziesspezifisches Verhalten determinieren.

In der Schwestergruppe der Zygomyceten, den Glomeromyceten, die ursprünglich eine Untergruppe der Zygomyceten darstellten, wurde für SexM eine ähnliche Diversität von gezeigt (Halary et al., 2013). Für SexP wurde nur eine einzige korrespondierende Sequenz in *Rhizophagus* (syn. *Glomus*) *irregularis* nachgewiesen. Alle HMG-Domänen der *Glomus*-artigen gliedern sich in die der Mucorales perfekt ein, was den Schluss zulässt, dass Zygomyceten und Glomeromyceten wahrscheinlich einen in Bezug auf die Evolution der putativen *sex*-Transkriptionsfaktoren einen gemeinsamen Ahnen haben. Interessanterweise sind die Spezies der Glomeromyceten allem Anschein nach asexuell.

BlastP-Analysen ergaben zudem einige Treffer mit Ähnlichkeit zur HMG-Domäne von *sexM* für Chytridiomyceten (*Rhizoclosatium globosum* und *Spizellomyces punctatus*) und *sexP* (*Batrachochytrium dendrobatidis*, *Spizellomyces punctatus*, *Gonapodya prolifera* und *Rhizoclosatium globosum*). Für Amoebozoa, die zum Teil zur Gruppe der Nucleariidae zählen, wurden zwei zu SexM ähnliche und einige zu SexP ähnliche Proteine

gefunden. Für die Heterokonta, der Schwestergruppe der Opisthokonta, zu denen die Pilze zählen, wurden für die Spezies *Schizochytrium aggregatum*, *Aurantiochytrium limacinum*, *Thalassiosira pseudonana*, *Aplanochytrium kergulense* und *Fragilariopsis cylindrus* zur HMG-Domäne von SexP korrespondierende Proteine gefunden. Die Blast-Suche mit SexM ergab hier keinen Treffer. Dies deutet darauf hin, dass die HMG-Domänen kodierenden Transkriptionsfaktoren nicht erst innerhalb der Opisthokonta entstanden sind.

### 6.6.2 Homothallie

In allen drei homothallischen Mucorales, *Syzygites megalocarpus*, *Mycotypha africana* und *Zygorhynchus heterogamus*, sind beide *sex*-Allele in kompletter Struktur und wahrscheinlich funktional vorhanden. SexM und SexP sind daher wahrscheinlich gleichermaßen für die sexuelle Entwicklung der Mucorales von Bedeutung.

Die Protoplastenfusion zweier komplementärer, auxotropher Stämme von *Absidia glauca* führte zu homothallischen Isolaten. Die Bildung stabiler Heterokaryen tritt dabei eher selten auf. Stattdessen kommt es über die Fusion der Zellkerne zur Vermischung der Chromosomensätze beider Kreuzungspartner, was dazu führt, dass stabile homothallische Isolate aus der Fusion von (+)- und (–)-Kreuzungstyp einer Spezies hervorgehen können (Wöstemeyer und Brockhausen-Rohdemann, 1987). Eine induzierte sekundäre Homothallie ist somit auch bei Zygomyceten vorstellbar, wurde aber bis heute nicht auf natürlicher Ebene entdeckt.

Für die Ascomyceten *Neurospora tetrasperma* und *Podospora anserina* ist das Phänomen der sekundären Homothallie nachgewiesen worden. Diese zeichnet sich dadurch aus, dass die Kreuzungstyp-definierenden Gene auf zwei Zellkerne aufgeteilt sind, aber in einer zweikernigen Ascospore gemeinsam vorkommen (Bidard et al., 2011; Merino et al., 1996; Whitehouse, 1949).

In weiteren Analysen wurde die Rolle von *sexM* während der sexuellen Interaktion von *Mucor circinelloides* beschrieben. Dabei sind  $\Delta$ *sexM* Mutanten nicht mehr in der Lage, mit einem (+)- oder (–)-Kreuzungstyp von *Mucor circinelloides* zu kreuzen (Li et al., 2011). Für *sexP* gibt es bis jetzt dahingehend keine Untersuchungen.

Der *sex*-Locus von *Zygorhynchus heterogamus* weist die Besonderheit auf, dass *sexM* von jeweils zwei Genen für Alginatlyase und einen Triosephosphat Transporter umgeben

ist. Der *sex*-Locus dieses homothallischen Zygomyceten hat somit eine aus *sexM* und *sexP* hervorgegangenen Chimären-artige Struktur und könnte durch Fusion oder horizontalen Gentransfer aus zwei heterothallischen Spezies hervorgegangen sein.

Sowohl im *sex*-Locus von *Mycotypha africana* als auch von *Zygorhynchus heterogamus* wurden einige Gene für transponierbare Elemente gefunden. Dies unterstützt die Hypothese, dass beim Übergang von der Hetero- zur Homothallie eine Umstrukturierung der Kreuzungstyp-Gene stattgefunden hat (Idnurm, 2011; Schulz et al., 2016a).

Ein ähnliches Rearrangement des Kreuzungstyp-Locus, die mit einiger Wahrscheinlichkeit von transponierbaren Elementen vermittelt wurde, wurde für den Ascomyceten *Neurospora crassa* beschrieben (Gioti et al., 2012).

## 7 Literaturverzeichnis

- Agostinelli, E. (2014). Polyamines and transglutaminases: biological, clinical, and biotechnological perspectives. *Amino Acids*, 46(3), 475–485.
- Alcock, J., Warren, A.Y., Goodson, Y.J., Hill, S.J., Khan, R.N., und Lymn, J.S. (2011). Inhibition of tissue transglutaminase 2 attenuates contractility of pregnant human myometrium. *Biol. Reprod.*, 84(4), 646–653.
- Almeida, E.R.A., und Cerdá-Olmedo, E. (2008). Gene expression in the regulation of carotene biosynthesis in *Phycomyces*. *Curr. Genet.*, 53(3), 129–137.
- Altschul, S.F., Gish, W., Miller, W., Myres, E.W., und Lipman, D.J. (1990). Basic local alignment search tool. *J. Mol. Biol.*, 215(3), 403–410.
- Alvarez, M.I., Peláez, M.I., Eslava, A.P., Pelhez, M.I., Eslava, A.P., Peláez, M.I., und Eslava, A.P. (1980). Recombination between ten markers in *Phycomyces*. *Mol. Gen. Genet.*, 179(2), 447–452.
- Álvarez, V., Rodríguez-Sáiz, M., de la Fuente, J.L., Gudiña, E.J., Godio, R.P., Martín, J.F., und Barredo, J.L. (2006). The *crtS* gene of *Xanthophyllomyces dendrorhous* encodes a novel cytochrome-P450 hydroxylase involved in the conversion of  $\beta$ -carotene into astaxanthin and other xanthophylls. *Fungal Genet. Biol.*, 43(4), 261–272.
- Arrach, N., Fernández-Martín, R., Cerdá-Olmedo, E., und Avalos, J. (2001). A single gene for lycopene cyclase, phytoene synthase, and regulation of carotene biosynthesis in *Phycomyces*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 98(4), 1687–1692.
- Astell, C.R., Ahlstrom-Jonasson, L., Smith, M., Tatchell, K., Nasmyth, K.A., und Hall, B.D. (1981). The sequence of the DNAs coding for the mating-type loci of *Saccharomyces cerevisiae*. *Cell*, 27(1), 15–23.
- Austin, D.G., Bu'Lock, J.D., und Winstanley, D.J. (1969). Trisporic acid biosynthesis and carotenogenesis in *Blakesleea trispora*. *Biochem. J.*, 113(3), S. 34.
- Banbury, G.H. (1954). Process controlling zygophore formation and zygotropism in *Mucor mucedo* Brefeld. *Nature*, 173, 499–450.
- Bao, W., Kojima, K.K., und Kohany, O. (2015). Repbase update, a database of eukaryotic repetitive elements. *Mob. DNA*, 6(11), 1–6.
- Bardwell, L. (2004). A walk-through of the yeast mating pheromone response pathway. *Peptides*, 25(9), 1465–1476.



- Barrero, A.F., Herrador, M.M., Arteaga, P., Gil, J., González, J.-A., Alcalde, E., und Cerdá-Olmedo, E. (2011). New apocarotenoids and  $\beta$ -carotene cleavage in *Blakeslea trispora*. *Org. Biomol. Chem.*, 9(20), 7190–7195.
- Bayram, Ö., und Braus, G.H. (2012). Coordination of secondary metabolism and development in fungi: The velvet family of regulatory proteins. *FEMS Microbiol. Rev.*, 36(1), 1–24.
- Bayram, Ö., Krappmann, S., Ni, M., Bok, J.W., Helmstaedt, K., Yu, J.-H., und Braus, G.H. (2008a). VelB / VeA / LaeA complex coordinates light signal with fungal development and secondary metabolism. *Science*, 320, 1504–1506.
- Bayram, Ö., Krappmann, S., Seiler, S., Vogt, N., und Braus, G.H. (2008b). *Neurospora crassa* *ve-1* affects asexual conidiation. *Fungal Genet. Biol.*, 45(2), 127–138.
- Bejarano, E.R., Avalos, J., Lipson, E.D., und Cerdá-Olmedo, E. (1990). Photoinduced accumulation of carotene in *Phycomyces*. *Planta*, 183, 1–9.
- Bergman, K., Burke, P. V., Cerdá-Olmedo, E., David, C.N., Delbrück, M., Foster, K.W., Goodell, E.W., Heisenberg, M., Meissner, G., Zalokar, M., Dennison, D.S., und Shropshire, W. (1969). *Phycomyces*. *Bacteriol. Rev.*, 33(1), 99–157.
- Bidard, F., Benkhali, J.A., Coppin, E., Imbeaud, S., Grognet, P., Delacroix, H., und Debuchy, R. (2011). Genome-wide gene expression profiling of fertilization competent mycelium in opposite mating types in the heterothallic fungus *Podospora anserina*. *PLoS One*, 6(6), e21476.
- Bieszke, J.A., Braun, E.L., Bean, L.E., Kang, S., Natvig, D.O., und Borkovich, K.A. (1999). The *nop-1* gene of *Neurospora crassa* encodes a seven transmembrane helix retinal-binding protein homologous to archaeal rhodopsins. *Proc Natl Acad Sci USA*, 96(14), 8034–8039.
- Blakeslee, A.F. (1904). Sexual reproduction in the Mucorineae. *Proc. Am. Acad. Arts Sci.*, 40(4), 205–319.
- Blakeslee, A.F. (1915). Sexual reactions between hermaphroditic and diocious Mucors. *Biol. Bull.*, 29(2), 96–102.
- Bodor, Á., Stubnya, V., Ádám, A., Láday, M., und Hornok, L. (2013). The white collar complex is essential for sexual reproduction but dispensable for conidiation and invasive growth in *Fusarium verticillioides*. *Acta Phytopathol. Entomol. Hungarica*, 48(1), 1–18.

- Burgeff, H. (1924). Untersuchungen über Sexualität und Parasitismus bei Mucorineen I. Verlag von Gustav Fischer, Jena.
- Burmester, A., Karimi, S., Wetzel, J., und Wöstemeyer, J. (2013). Complementation of a stable Met2-1 mutant of the zygomycete *Absidia glauca* by the corresponding wild-type allele of the mycoparasite *Parasitella parasitica*, transferred during infection. *Microbiology*, 159, 1639–1648.
- Burmester, A., Richter, M., Schultze, K., Voelz, K., Schachtschabel, D., Boland, W., Wöstemeyer, J., und Schimek, C. (2007). Cleavage of  $\beta$ -carotene as the first step in sexual hormone synthesis in zygomycetes is mediated by a trisporic acid regulated  $\beta$ -carotene oxygenase. *Fungal Genet. Biol.*, 44(11), 1096–1108.
- Bustin, M. (2001). Revised nomenclature for high mobility group (HMG) chromosomal proteins. *Trends Biochem. Sci.*, 26(3), 152–153.
- Cadet, J., Sage, E., und Douki, T. (2005). Ultraviolet radiation-mediated damage to cellular DNA. *Mutat. Res.*, 571(1–2), 3–17.
- Caglioti, L., Cainelli, G., Camerino, B., Mondelli, R., Prieto, A., Quilico, A., Salvatori, T., und Selva, A. (1965). The structure of trisporic-C acid. *Tetrahedron Suppl.*, (7), 175–187.
- Calvo-Mendez, A., und Ruiz-Herrera, J. (1987). Effect of ornithine decarboxylase inhibitors on the germination of sporangiospores of Mucorales. *Exp. Mycol.*, 11, 287–296.
- Camino, L.P., Idnurm, A., und Cerdá-Olmedo, E. (2015). Diversity, ecology, and evolution in *Phycomyces*. *Fungal Biol.*, 119(11), 1007–1021.
- Chaffin, W.L., López-Ribot, J.L., Casanova, M., Gozalbo, D., und Martínez, J.P. (1998). Cell wall and secreted proteins of *Candida albicans*: identification, function, and expression. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 62(1), 130–80.
- Chaharbakhshi, E., und Jemc, J.C. (2016). Broad-complex, tramtrack, and bric-à-brac (BTB) proteins: Critical regulators of development. *Genesis*, 54(10), 505–518.
- Cherry, W.B., McKinney, R.M., Emmel, V.M., Spillane, J.T., Hebert, A.G., Pittman, B., und McKinney, R.M. (1969). Evaluation of commercial fluorescein isothiocyanates used in fluorescent antibody Studies. *Stain Technol.*, 44, 179–186.
- Corrochano, L.M., und Cerdá-Olmedo, E. (1992). Sex, light and carotenes: the development of *Phycomyces*. *Trends Genet.*, 8(8), 268–274.

- Corrochano, L.M., und Garre, V. (2010). Photobiology in the Zygomycota: Multiple photoreceptor genes for complex responses to light. *Fungal Genet. Biol.*, 47(11), 893–899.
- Corrochano, L.M., Kuo, A., Marcet-Houben, M., Polaino, S., Salamov, A., Villalobos-Escobedo, J.M., Grimwood, J., Álvarez, M.I., Avalos, J., Bauer, D., Benito, E.P., Benoit, I., Burger, G., Camino, L.P., Cánovas, D., Cerdá-Olmedo, E., Cheng, J.-F., ... Grigoriev, I. V. (2016). Expansion of signal transduction pathways in fungi by extensive genome duplication. *Curr. Biol.*, 26, 1577–1584.
- Couée, I., Hummel, I., Sulmon, C., Gouesbet, G., und El Amrani, A. (2004). Involvement of polyamines in root development. *Plant Cell. Tissue Organ Cult.*, 76(1), 1–10.
- Craft, N.E., und Soares, J.H. (1992). Relative solubility, stability, and absorptivity of lutein and  $\beta$ -carotene in organic solvents. *J. Agric. Food Chem.*, 40(3), 431–434.
- Crook, E.M., und Johnston, I.R. (1962). The qualitative analysis of the cell walls of selected species of fungi. *Biochem. J.*, 83(1958), 325–331.
- Cutter, V.M. (1942). Nuclear behavior in the Mucorales - II. The *Rhizopus*, *Phycomyces* and *Sporodinia* patterns. *Bull. Torrey Bot. Club*, 69(8), 592–616.
- Czempinski, K., Kruft, V., Wöstemeyer, J., und Burmester, A. (1996). 4-Dihydromethyltrisporate dehydrogenase from *Mucor mucedo*, an enzyme of sexual hormone pathway : purification , and cloning of the corresponding gene. *Microbiology*, 142, 2647–2654.
- David-Palma, M., Sampaio, J.P., und Gonçalves, P. (2016). Genetic dissection of Sexual reproduction in a primary homothallic basidiomycete. *PLOS Genet.*, 12(6), e1006110.
- Debuchy, R, Berteaux-Lecellier V, Silar, P. (2010) Mating systems and sexual morphogenesis in ascomycetes. In: Borkovich KA, Ebbole DS. (eds) Cellular and molecular biology of filamentous fungi, ASM Press, 501–535.
- Debuchy, R, und Turgeon, B.G. (2006) Mating-type structure, evolution, and function in euascomycetes. In: Kües U, Fischer R (eds) The Mycota I, Springer, Berlin, 293–323.
- Del Duca, S., Serafini-Fracassini, D., und Cai, G. (2014). Senescence and programmed cell death in plants: polyamine action mediated by transglutaminase. *Front. Plant Sci.*, 5, 120.

- Dixon, D., Brandts, N., und Haynesll, D.H. (1984). Chlorotetracycline Fluorescence Is a Quantitative Measure of the Free Internal  $\text{Ca}^{2+}$  Concentration Achieved by Active Transport. *J. Biol. Chem.*, (3), 13737–13741.
- Dockter, M.E., und Magnuson, J.A. (1975). Membrane phase transitions and the transport of chlortetracycline. *Arch. Biochem. Biophys.*, 168(1), 81–88.
- Dyer, P.S. (2008). Evolutionary Biology: Genomic Clues to Original Sex in Fungi. *Curr. Biol.*, 18(5), 207–209.
- Edelmann, R.E., und Klomparens, K.L. (1994). The ultrastrucutral development of sporangiospores in multispored sporangia of *Zygorhynchus heterogamus* with a hypothesis of sporangial wall dissolution. *Mycologia*, 86(1), 57–71.
- Edelmann, R.E., und Klomparens, K.L. (1995). Zygosporogenesis in *Zygorhynchus heterogamus*, with a proposal for standardization of structural nomenclature. *Mycologia*, 87(3), 304–318.
- Ehrenberg, C.G. (1829). *Syzygites*, eine neue Schimmelgattung nebst Beobachtungen über sichtbare Bewegung in Schimmeln. *Verhandlungen Der Gesellschaft Naturforschender Freunde Zu Berlin*, 1, 98–109.
- Einax, E., und Voigt, K. (2003). Oligonucleotide primers for the universal amplification of  $\beta$ -tubulin genes facilitate phylogenetic analyses in the regnum fungi. *Org. Divers. Evol.*, 3(3), 185–194.
- Engelmann, B., Schumacher, U., und Duhm, J. (1990). Use of chlortetracycline fluorescence for the detection of  $\text{Ca}^{2+}$  storing intracellular vesicles in normal human erythrocytes. *J. Cell. Physiol.*, 143(2), 357–363.
- Eslava, A.P., Alvarez, M.I., Burke, P. V., und Delbrück, M. (1975). Genetic recombination in sexual crosses of *Phycomyces*. *Genetics*, 80(3), 445–462.
- Esposito, C., und Caputo, I. (2005). Mammalian transglutaminases: Identification of substrates as a key to physiological function and physiopathological relevance. *FEBS J.*, 272(3), 615–631.
- Fesus, L., und Piacentini, M. (2002). Transglutaminase 2: an enigmatic enzyme with diverse functions. *Trends Biochem. Sci.*, 27(10), 534–9.
- Finnegan, D.J. (1989). Eukaryotic transposable elements and genome evolution. *Trends Genet.*, 5, 103–107.

- Fischer, J.A., McCann, M.P., und Snetselaar, K.M. (2001). Methylation is involved in the *Ustilago maydis* mating response. *Fungal Genet. Biol.*, 34(1), 21–35.
- Fraser, J.A., Diezmann, S., Subaran, R.L., Allen, A., Lengeler, K.B., Dietrich, F.S., und Heitman, J. (2004). Convergent Evolution of chromosomal sex-determining regions in the animal and fungal kingdoms. *PLoS Biol.*, 2(12), e384.
- Fraser, P.D., Ruiz-Hidalgo, M.J., Lopez-Matas, M.A., Alvarez, M.I., Eslava, A.P., und Bramley, P.M. (1996). Carotenoid biosynthesis in wild type and mutant strains of *Mucor circinelloides*. *Biochim. Biophys. Acta*, 1289(2), 203–208.
- Friedberg, E.C. (2003). DNA damage and repair. *Nature*, 421(6921), 436–40.
- Galagan, J.E., Calvo, S.E., Cuomo, C., Ma, L.-J., Wortman, J.R., Batzoglou, S., Lee, S.-I., Baştürkmen, M., Spevak, C.C., Clutterbuck, J., Kapitonov, V., Jurka, J., Scazzocchio, C., Farman, M., Butler, J., Purcell, S., Harris, S., ... Birren, B.W. (2005). Sequencing of *Aspergillus nidulans* and comparative analysis with *A. fumigatus* and *A. oryzae*. *Nature*, 438(7071), 1105–1115.
- Gauger, W.L. (1977). Meiotic Gene Segregation in *Rhizopus stolonifer*. *J. Gen. Microbiol.*, 101(2), 211–217.
- Gioti, A., Mushegian, A.A., Strandberg, R., Stajich, J.E., und Johannesson, H. (2012). Unidirectional evolutionary transitions in fungal mating systems and the role of transposable elements. *Mol. Biol. Evol.*, 29(10), 3215–3226.
- Gooday, G.W. (1978). Functions of trisporic acid. *Philos. Trans. R. Soc. B*, 284, 509–520.
- Gooday, G.W., Fawcett, P., Green, D., und Shaw, G. (1973). The Formation of fungal sporopollenin in the zygosporic wall of *Mucor mucedo*: a role for the sexual carotenogenesis in the *Mucorales*. *J. Gen. Microbiol.*, 74(2), 233–239.
- Govind, N.S., und Cerdá-Olmedo, E. (1986). Sexual activation of carotenogenesis in *Phycomyces blakesleeanus*. *Microbiology*, 132(10), 2775–2780.
- Green, E. (1927). The Life-history of *Zygorhynchus moelleri*, *Vnill. 1. Ann. Bot.*, (11).
- Griffin, M., Casadio, R., und Bergamini, C.M. (2002). Transglutaminases: nature's biological glues. *Biochem. J.*, 368, 377–96.
- Grigoriev, I.V., Nikitin, R., Haridas, S., Kuo, A., Ohm, R., Otilar, R., Riley, R., Salamov, A., Zhao, X., Korzeniewski, F., Smirnova, T., Nordberg, H., Dubchak, I., und

- Shabalov, I. (2014). MycoCosm portal: gearing up for 1000 fungal genomes. *Nucleic Acids Res.*, 42, D699-704.
- Gryganskyi, A.P., Lee, S.C., Litvintseva, A.P., Smith, M.E., Bonito, G., Porter, T.M., Anishchenko, I.M., Heitman, J., und Vilgalys, R. (2010). Structure, function, and phylogeny of the mating locus in the *Rhizopus oryzae* complex. *PLoS One*, 5(12), e15273.
- Guzmán-de-Peña, D., Aguirre, J., und Ruiz-Herrera, J. (1998). Correlation between the regulation of sterigmatocystin biosynthesis and asexual and sexual sporulation in *Emericella nidulans*. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 73(2), 199–205.
- Haber, J.E. (2012). Mating-Type Genes and MAT Switching in *Saccharomyces cerevisiae*. *Genetics*, 191, 33–64.
- Halary, S., Daubois, L., Terrat, Y., Ellenberger, S., Wöstemeyer, J., und Hijri, M. (2013). Mating type gene homologues and putative sex pheromone-sensing pathway in arbuscular mycorrhizal fungi, a presumably asexual plant root symbiont. *PLoS One*, 8(11), 1–12.
- Hall, T. A. (1999). BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symp.*, 41, 95–98.
- Hänfler, J., Teepe, H., Weigel, C., Kruft, V., Lurz, R., und Wöstemeyer, J. (1992). Circular extrachromosomal DNA codes for a surface protein in the (+) mating type of the zygomycete *Absidia glauca*. *Curr. Genet.*, 22(4), 319–325.
- Harding, R.W., und Melles, S. (1983). Genetic analysis of phototropism of *Neurospora crassa* perithecial beaks using white collar and albino mutants. *Plant. Physiol.*, 72, 996–1000.
- Harding, R.W., und Turner, R. V. (1981). Photoregulation of the carotenoid biosynthetic pathway in albino and white collar mutants of *Neurospora crassa*, *Plant. Physiol.*, 68, 745–749.
- Hawker, L.E., und Gooday, M.A. (1968). Development of the zygospore wall in *Rhizopus sexualis* (Smith) Callen. *J. Gen. Microbiol.*, 54(1), 13–20.
- Hayashibe, M., und Katohda, S. (1973). Initiation of budding and chitin-ring. *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 101, 295–301.
- Heby, O. (1995). DNA methylation and polyamines in embryonic development and cancer. *Int. J. Dev. Biol.*, 39(5), 737–757.

- Heisenberg, M., und Cerdá-Olmedo, E. (1968). Segregation of heterokaryons in the asexual cycle of *Phycomyces*. *MGG Mol. Gen. Genet.*, 102(3), 187–195.
- Herrera-Estrella, A., und Horwitz, B.A. (2007). Looking through the eyes of fungi: molecular genetics of photoreception. *Mol. Microbiol.*, 64(1), 5–15.
- Herskowitz, I. (1988). Life cycle of the budding yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Microbiol. Rev.*, 52(4), 536–553.
- Hocking, D. (1965). Demonstration of beta-carotene in gametangia of *Phycomyces blakesleeanus* Burgeff. *Nature*, 206(4986), 846.
- Idnurm, A. (2011). Sex Determination in the First-Described Sexual Fungus. *Eukaryot. Cell*, 10, 1485–1491.
- Idnurm, A., Rodríguez-Romero, J., Corrochano, L.M., Sanz, C., Iturriaga, E.A., Eslava, A.P., und Heitman, J. (2006). The *Phycomyces madA* gene encodes a blue-light photoreceptor for phototropism and other light responses. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 103(12), 4546–51.
- Idnurm, A., Walton, F.J., Floyd, A., und Heitman, J. (2008). Identification of the sex genes in an early diverged fungus. *Nature*, 451(7175), 193–196.
- Iturriaga, E.A., Velayos, A., und Eslava, A.P. (2000). Structure and function of the genes involved in the biosynthesis of carotenoids in the mucorales. *Biotechnol. Bioprocess Eng.*, 5(4), 263–274.
- James, T.Y., Kauff, F., Schoch, C.L., Matheny, P.B., Hofstetter, V., Cox, C.J., Celio, G., Gueidan, C., Fraker, E., Miadlikowska, J., Lumbsch, H.T., Rauhut, A., Reeb, V., Arnold, A.E., Amtoft, A., Stajich, J.E., Hosaka, K., ... Vilgalys, R. (2006a). Reconstructing the early evolution of Fungi using a six-gene phylogeny. *Nature*, 443(7113), 818–822.
- James, T.Y., Letcher, P.M., Longcore, J.E., Mozley-Standridge, S.E., Porter, D., Powell, M.J., Griffith, G.W., und Vilgalys, R. (2006b). A molecular phylogeny of the flagellated fungi (Chytridiomycota) and description of a new phylum (Blastocladiomycota). *Mycologia*, 98(6), 860–871.
- Janion, C. (2008). Inducible SOS Response System of DNA Repair and Mutagenesis in *Escherichia coli*. *Int. J. Biol. Sci.*, 4(6), 338–344.
- Jeitner, T.M., Delikatny, E.J., Ahlqvist, J., Capper, H., und Cooper, A.J.L. (2005). Mechanism for the inhibition of transglutaminase 2 by cystamine. *Biochem. Pharmacol.*, 69(6), 961–970.

- Johnson, A.D. (1995). Molecular mechanisms of cell-type determination. *Curr. Opin. Genet. Dev.*, 5, 552–558.
- Jones, B.E., Williamson, I.P., und Gooday, G.W. (1981). No Title. In D. H. O'Day & P. A. Horgen (Eds.), *Sexual interactions in eucaryotic microbes*, London: Academic Press, 179–197.
- Jones, P., Binns, D., Chang, H.-Y., Fraser, M., Li, W., McAnulla, C., McWilliam, H., Maslen, J., Mitchell, A., Nuka, G., Pesseat, S., Quinn, A.F., Sangrador-Vegas, A., Scheremetjew, M., Yong, S.-Y., Lopez, R., und Hunter, S. (2014). InterProScan 5: genome-scale protein function classification. *Bioinformatics*, 30(9), 1236–1240.
- Kämper, J., Reichmann, M., Romeis, T., Bölker, M., und Kahmann, R. (1995). Multiallelic recognition: Nonspecific-dependent dimerization of the bE and bW homeodomain proteins in *Ustilago maydis*. *Cell*, 81(1), 73–83.
- Kanz, C., Aldebert, P., Althorpe, N., Baker, W., Baldwin, A., Bates, K., Browne, P., van den Broek, A., Castro, M., Cochrane, G., Duggan, K., Eberhardt, R., Faruque, N., Gamble, J., Diez, F.G., Harte, N., Kulikova, T., ... Apweiler, R. (2005). The EMBL Nucleotide Sequence Database. *Nucleic Acids Res.*, 33, D29–33.
- Kawase, M., und Takahashi, M. (1995). Chemical composition of sporopollenin in *Magnolia grandiflora* (Magnoliaceae) and *Hibiscus syriacus* (Malvaceae). *Grana*, 34(4), 242–245.
- Kellner, M., Burmester, A., Wöstemeyer, A., und Wöstemeyer, J. (1993). Transfer of genetic information from the mycoparasite *Parasitella parasitica* to its host *Absidia glauca*. *Curr. Genet.*, 48, 334–337.
- Klix, V., Nowrousian, M., Ringelberg, C., Loros, J.J., Dunlap, J.C., und Pöggeler, S. (2010). Functional characterization of *MAT1-1*-specific mating-type genes in the homothallic ascomycete *Sordaria macrospora* provides new insights into essential and nonessential sexual regulators. *Eukaryot. Cell*, 9(6), 894–905.
- Kothe, E. (2002). Sexual development in basidiomycetes. In H. D. Osiewacz (Ed.), *Molecular biology of fungal development* New York, Basel: Marcel Dekker, Inc, 245–275.
- Kritsky, M.S., Russo, V.E.A., Filippovich, S.Y., Afanasieva, T.P., und Bachurina, G.P. (2002). The Opposed effect of 5-azacytidine and light on the development of



- reproductive structures in *Neurospora crassa*¶. *Photochem. Photobiol.*, 75(1), 79–83.
- Kubo, H., und Mihara, H. (1986). Effects of light and temperature on sporangiospore initiation in *Pilobolus crystallinus* (Wiggers) Tode. *Planta*, 168, 337–339.
- Kües, U., James, T.Y., und Heitman, J. (2011). Mating type in basidiomycetes: unipolar, bipolar, and tetrapolar patterns of sexuality. In K. Esser, S. Pöggeler, & J. Wöstemeyer (Eds.), *The Mycota* (14th ed), Berlin, Heidelberg: Springer Verlag, 97–163.
- Kuzina, V., und Cerdá-Olmedo, E. (2006). Modification of sexual development and carotene production by acetate and other small carboxylic acids in *Blakeslea trispora* and *Phycomyces blakesleeanus*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 72(7), 4917–4922.
- Kuzina, V., Domenech, C., und Cerdá-Olmedo, E. (2006). Relationships among the biosyntheses of ubiquinone, carotene, sterols, and triacylglycerols in *Zygomycetes*. *Arch. Microbiol.*, 186(6), 485–493.
- Lajemi, M., Borge, L., Thenet-Gauci, S., und Adolphe, M. (1997). The use of Fluoresceincadaverine for detecting amine acceptor protein substrates accessible to active transglutaminase in living cells. *Histochem. J.*, 29(8), 593–606.
- Lastovetsky, O.A., Gaspar, M.L., Mondo, S.J., LaButti, K.M., Sandor, L., Grigoriev, I. V., Henry, S.A., und Pawlowska, T.E. (2016). Lipid metabolic changes in an early divergent fungus govern the establishment of a mutualistic symbiosis with endobacteria. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 113(52), 15102–15107.
- Lee, D.W., Freitag, M., Selker, E.U., und Aramayo, R. (2008). A cytosine methyltransferase homologue is essential for sexual development in *Aspergillus nidulans*. *PLoS One*, 3(6), 1–10.
- Lee, J., Park, C., Kim, J.-C., Kim, J.-E., und Lee, Y.-W. (2010). Identification and functional characterization of genes involved in the sexual reproduction of the ascomycete fungus *Gibberella zeae*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 401(1), 48–52.
- Lee, P.C., und Schmidt-Dannert, C. (2003). Metabolic engineering towards biotechnological production of carotenoids in microorganisms. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 60(1–2), 1–11.

- Lee, S.C., Corradi, N., Byrnes III, E.J., Torres-Martínez, S., Dietrich, F.S., Keeling, P.J., und Heitman, J. (2008). Microsporidia evolved from ancestral sexual fungi. *Curr. Biol.*, 18(21), 1675–1679.
- Lee, S.C., Ni, M., Li, W., Shertz, C., und Heitman, J. (2010). The evolution of sex: a perspective from the fungal kingdom. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 74(2), 298–340.
- Levin, H.L., und Moran, J. V. (2011). Dynamic interactions between transposable elements and their hosts. *Nat. Rev. Genet.*, 12(9), 615–627.
- Li, C.H., Cervantes, M., Springer, D.J., Boekhout, T., Ruiz-Vázquez, R.M., Torres-Martínez, S.R., Heitman, J., und Lee, S.C. (2011). Sporangiospore size dimorphism is linked to virulence of *Mucor circinelloides*. *PLoS Pathog.*, 7(6), e1002086.
- Lin, X., und Heitman, J. (2007). Mechanisms of homothallism in fungi and transitions between heterothallism and homothallism. In J. Heitman, J. W. Kronstad, J. W. Taylor, und L. A. Casselton (Eds.), *Sex in fungi*, ASM press, 35–57.
- Linde, J., Schwartze, V., Binder, U., Lass-Flörl, C., Voigt, K., und Horn, F. (2014). De novo whole-genome sequence and genome annotation of *Lichtheimia ramosa*. *Genome Announc.*, 2e00888-14.
- Ling-Young, M. (1930). Étude des phénomènes de la sexualité chez les Mucorinées. II. segregation des sexes. *Rev. Générale Des Bot.*, 42, 205–218.
- Lorca-Pascual, J.M., Murcia-Flores, L., Garre, V., Torres-Martínez, S., und Ruiz-Vázquez, R.M. (2004). The RING-finger domain of the fungal repressor *crpA* is essential for accurate light regulation of carotenogenesis. *Mol. Microbiol.*, 52(5), 1463–1474.
- Martin, T., Lu, S.-W., van Tilbeurgh, H., Ripoll, D.R., Dixelius, C., Turgeon, B.G., und Debuchy, R. (2010). Tracing the origin of the fungal a 1 Domain places its ancestor in the HMG-Box superfamily: implication for fungal mating-type evolution. *PLoS Genet.*, 5(12), e15199.
- Marzluf, G.A. (1997). Molecular genetics of sulfur assimilation in filamentous fungi and yeast. *Annu. Rev. Microbiol.*, 51, 73–96.
- Mayrhofer, S., Weber, J.M., und Pöggeler, S. (2006). Pheromones and pheromone receptors Are required for proper sexual development in the homothallic ascomycete *Sordaria macrospora*. *Genetics*, 172(3), 1521–1533.

- Merino, S.T., Nelson, M.A., Jacobson, D.J., und Natvig, D.O. (1996). Pseudohomothallism and evolution of the mating-type chromosome in *Neurospora tetrasperma*. *Genet. Soc. Am.*, 143, 789–799.
- Mesland, D.A.M., Huisman, J.G., und van den Ende, H. (1974). Volatile sexual hormones in *Mucor mucedo*. *J. Gen. Microbiol.*, 80, 111–117.
- Metzenberg, R.L., und Glass, N.L. (1990). Mating type and mating strategies in *Neurospora*. *Bioessays*, 12(2), 53–59.
- Moeller, A. (1902). Über die Wurzelbildung der ein und zweijährigen Kiefern im märkischen Sandboden. *Zeitschrift Für Forst- Und Jagdwes.*, 34, 197–215.
- Moeller, A. (1903). Untersuchung über ein und zweijährige Kiefern im märkischen Sandboden. *Zeitschrift Für Forst- Und Jagdwes.*, 35.
- Monheit, J.G., Brown, G., Kott, M.M., Schmidt, W.A., und Moore, D.G. (1986). Calcofluor White detection of fungi in cytopathology. *Am. J. Clin. Pathol.*, 85(2).
- Morau, F. (1913). Recherches sur la reproduction des Mucorinées et de quelques autres Thallophytes de Moreau, Fernand - AbeBooks. *Société française d'imprimerie et de librairie, Poitiers*.
- Mullis, K., Faloona, F., Scharf, S., Saiki, R., Horn, G., und Erlich, H. (1986). Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: The polymerase chain reaction. *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.*, 51(1), 263–273.
- Navarro, E., Lorca-Pascual, J.M., Quiles-Rosillo, M.D., Nicolás, F.E., Garre, V., Torres-Martínez, S., Ruiz-Vázquez, R.M., Torres-Martínez, S., und Ruiz-Vázquez, R.M. (2001). A negative regulator of light-inducible carotenogenesis in *Mucor circinelloides*. *Mol. Genet. Genomics*, 266(3), 463–470.
- Nelson, M.A., und Metzenberg, R.L. (1992). Sexual development genes of *Neurospora crassa*. *Genet. Soc. Am.*, 132, 149–162.
- Nickerson, K.W., Dunkle, L.D., und Van Etten, J.L. (1977). Absence of spermine in filamentous fungi. *J. Bacteriol.*, 129(1), 173–176.
- Nicolás, F.E., Calo, S., Murcia-Flores, L., Garre, V., Ruiz-Vázquez, R.M., und Torres-Martínez, S. (2008). A RING-finger photocarotenogenic repressor involved in asexual sporulation in *Mucor circinelloides*. *FEMS Microbiol. Lett.*, 280(1), 81–88.

- Nielsen, N. (1959). Studies on the sexuality of homothallic *Mucors*. In *Hereditas* Blackwell Publishing Ltd, Vol. 9, 236–244.
- Nieuwenhuis, M., und van den Ende, H. (1975). Sex specificity of hormone synthesis in *Mucor-mucedo*. *Arch. Microbiol.*, 102(2), 167–169.
- O'Donnell, K.L., Flegler, S.L., Ellis, J.J., und Hesseltine, C.W. (1978). The *Zygorhynchus* zygosporangium and zygospore. *Can. J. Bot.*, 56, 1061–1073.
- Park, M.H. (2006). The post-translational synthesis of a polyamine-derived amino acid, hypusine, in the eukaryotic translation initiation factor 5A (eIF5A). *J. Biochem.*, 139(2), 161–169.
- Paulus, T.J., Cramer, C.L., und Davis, R.H. (1983). Compartmentation of spermidine in *Neurospora crassa*. *J. Biol. Chem.*, 258(14), 8608–8612.
- Peyronel, B., und Dal Vesco, G. (1955). Ricerche sulla microflora di un terreno agrario presso *Torino*. *Allionia*, 2, 357–417.
- Plempel, M. (1965). Sexualreaktion und Carotin-Synthese bei Zygomyceten. *Planta*, 65, 225–231.
- Pöggeler, S. (2001). Mating-type genes for classical strain improvements of ascomycetes. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 56(5–6), 589–601.
- Pöggeler, S., und Kück, U. (1997). Mating-Type genes from the homothallic fungus *Sordaria macrospora* are functionally expressed in a heterothallic ascomycete. *Gen. Soc. of America*, 147, 215–231.
- Pöggeler, S., und Kück, U. (2000). Comparative analysis of the mating-type loci from *Neurospora crassa* and *Sordaria macrospora*: identification of novel transcribed ORFs. *Mol. Gen. Genet. MGG*, 263, 292–301.
- Pontecorvo, G., Roper, J.A., Chemmons, L.M., Macdonald, K.D., und Bufton, A.W.J. (1953). The genetics of *Aspergillus nidulans*. *Adv. Genet.*, 5, 141–238.
- Quiles-Rosillo, M.D., Ruiz-Vázquez, R.M., Torres-Martínez, S., und Garre, V. (2005). Light induction of the carotenoid biosynthesis pathway in *Blakeslea trispora*. *Fungal Genet. Biol.*, 42(2), 141–153.
- Raudaskoski, M., und Kothe, E. (2010). Basidiomycete mating type genes and Pheromone signaling. *Eukaryot. Cell*, 9(6), 847–859.
- Riley, R., Charron, P., Idnurm, A., Farinelli, L., Dalpé, Y., Martin, F., und Corradi, N. (2014). Extreme diversification of the mating type-high-mobility group (MATA-

- HMG) gene family in a plant-associated arbuscular mycorrhizal fungus. *New Phytol.*, 201(1), 254–268.
- Rodriguez-Romero, J., Hedtke, M., Kastner, C., Müller, S., und Fischer, R. (2010). Fungi, hidden in soil or up in the air: light makes a difference. *Annu. Rev. Microbiol.*, 64(1), 585–610.
- Roukas, T., und Mantzouridou, F. (2001). An improved method for extraction of  $\beta$ -carotene from *Blakeslea trispora*. *Appl. Biochem. Biotechnol.*, 90(1), 37–45.
- Ruiz-Herrera, J. (1994). Polyamines, DNA methylation, and fungal differentiation. *Crit. Rev. Microbiol.*, 20(2), 143–150.
- Rutherford, K., Parkhill, J., Crook, J., Horsnell, T., Rice, P., Ede Rajandream, M.-A., und Barrell, B. (2000). Artemis: sequence visualization and annotation. *Bioinform. Appl. NOTE*, 16(10), 944–945.
- Sahadevan, Y. (2013). Molecular aspects of sex and trisporoid signaling in mucoralean fungi. Dissertation FSU Jena.
- Saleem, A.-R. (2003). Analysis of sexual hormone biosynthesis in parasitic development of *Parasitella parasitica* on different hosts. Dissertation, FSU Jena.
- Sambrook, J., und Russel, D.W. (2000). Molecular Cloning, 3-Volume Set : A Laboratory Manual. Cold Spring Harboc Lab. Press.
- Sancar, A. (1996). DNA excision repair. *Annu. Rev. Biochem.*, 65, 43–81.
- Sanz, C., Rodríguez-Romero, J., Idnurm, A., Christie, J.M., Heitman, J., Corrochano, L.M., und Eslava, A.P. (2009). *Phycomyces* MADB interacts with MADA to form the primary photoreceptor complex for fungal phototropism. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 106(17), 7095–7100.
- Sanz, C., Velayos, A., Álvarez, M.I., Benito, E.P., und Eslava, A.P. (2011). Functional analysis of the *phycomyces carRA* gene encoding the enzymes phytoene synthase and lycopene cyclase. *PLoS One*, 6(8), e23102.
- Sargent, M.L., und Briggs, W.R. (1967). The effects of light on a circadian rhvthm of conidiation in *Neurospora*. *Plant Physiol.*, 42, 1504–1510.
- Satina, S., und Blakeslee, A.F. (1930). Imperfect sexual reactions in homothallic and heterothallic *Mucors*. *Bot. Gaz.*, 90(3), 299–311.

- Schimek, C., Kleppe, K., Saleem, A.-R., Voigt, K., Burmester, A., und Wöstemeyer, J. (2003). Sexual reactions in Mortierellales are mediated by the trisporic acid system. *Mycol. Res.*, 107(6), 736–747.
- Schimek, C., Petzold, A., Schultze, K., Wetzel, J., Wolschendorf, F., Burmester, A., und Wöstemeyer, J. (2005). 4-Dihydromethyltrisporate dehydrogenase, an enzyme of the sex hormone pathway in *Mucor mucedo*, is constitutively transcribed but its activity is differently regulated in (+) and (-) mating types. *Fungal Genet. Biol.*, 42(9), 804–812.
- Schimek, C., und Wöstemeyer, J. (2009). Carotene derivatives in sexual communication of zygomycete fungi. *Phytochemistry*, 70(15–16), 1867–1875.
- Schipper, M.A.A. (1973). A Study on variability in *Mucor hiemalis* and related species Studies in Mycology. *Inst. R. Netherlands Acad. Sci. Lett.*, 4.
- Schlacher, K., und Goodman, M.F. (2007). Lessons from 50 years of SOS DNA-damage-induced mutagenesis. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 8(7), 587–594.
- Schulz, E., Siegmund, L., Voigt, J. und Wöstemeyer, J. (2016b). Hyphal interactions: A simple technique for covalent modification of sexually committed aerial mycelia of the zygomycete *Zygorhynchus moelleri*. *Endocyt. Cell Res.* 27, 3 – 8.
- Schulz, E., und Wetzel, J. (2016). Morphological characterization of sex-deficient mutants of the homothallic zygomycete *Zygorhynchus moelleri*. *Mycoscience*, 57(5), 1–15.
- Schulz, E., Wetzel, J., Burmester, A., Ellenberger, S., Siegmund, L., und Wöstemeyer, J. (2016a). Sex loci of homothallic and heterothallic *Mucorales*. *Endocytobiosis Cell Res.*, 27(4), 39–57.
- Schwartz, V.U., Winter, S., Shelest, E., Marcet-Houben, M., Horn, F., Wehner, S., Linde, J., Valiante, V., Sammeth, M., Riege, K., Nowrousian, M., Kaerger, K., Jacobsen, I.D., Marz, M., Brakhage, A.A., Gabaldón, T., Böcker, S., und Voigt, K. (2014). Gene expansion shapes genome architecture in the human pathogen *Lichtheimia corymbifera*: An evolutionary genomics analysis in the ancient terrestrial *Mucorales* (Mucoromycotina). *PLoS Genet*, 10(8).
- Seif, E., Leigh, J., Liu, Y., Roewer, I., Forget, L., und Lang, B.F. (2005). Comparative mitochondrial genomics in zygomycetes: bacteria-like RNase P RNAs, mobile elements and a close source of the group I intron invasion in angiosperms. *Nucleic Acids Res.*, 33(2), 734–744.

- Sharrock, R.A. (2008). The phytochrome red/far-red photoreceptor superfamily. *Genome Biol.*, 9(8), 230.
- Shen, W.-C., Bobrowicz, P., und Ebbole, D.J. (1999). Isolation of pheromone precursor genes of *Magnaporthe grisea*. *Fungal Genet. Biol.*, 27(2–3), 253–63.
- Siegel, M., und Khosla, C. (2007). Transglutaminase 2 inhibitors and their therapeutic role in disease states. *Pharmacol. Ther.*, 115(2), 232–45.
- Sievers, F., Wilm, A., Dineen, D., Gibson, T.J., Karplus, K., Li, W., Lopez, R., McWilliam, H., Remmert, M., Söding, J., Thompson, J.D., und Higgins, D.G. (2011). Fast, scalable generation of high-quality protein multiple sequence alignments using Clustal Omega. *Mol. Syst. Biol.*, 7, 539.
- Silva, F., Navarro, E., Peñaranda, A., Murcia-Flores, L., Torres-Martínez, S., und Garre, V. (2008). A RING-finger protein regulates carotenogenesis via proteolysis-independent ubiquitylation of a White Collar-1-like activator. *Mol. Microbiol.*, 70(4), 1026–1036.
- Silva, F., Torres-Martínez, S., und Garre, V. (2006). Distinct white collar-1 genes control specific light responses in *Mucor circinelloides*. *Mol. Microbiol.*, 61(4), 1023–1037.
- Souza, C.A.J., Silva, C.C., und Ferreira, A.V.-B. (2003). Sex in fungi: Lessons of gene regulation. *Genet. Mol. Res.*, 2(1), 136–147.
- Stalpers, J.A., und Schipper, M.A.A. (1980). Comparison of zygospor ornamentation in intra- and interspecific matings in some related species of *Mucor* and *Backusella*. *Persoonia*, 11(1), 39–52.
- Steenkamp, E.T., Wright, J., und Baldauf, S.L. (2006). The protistan origins of animals and fungi. *Mol. Biol. Evol.*, 23(1), 93–106.
- Sutter, R.P. (1970). Effect of light on  $\alpha$ -carotene accumulation in *Blakeslea trispora*. *J. Gen. Microbiol.*, 64(2), 215–221.
- Sutter, R.P. (1975). Mutations affecting sexual development in *Phycomyces blakesleeanus*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 72(1), 127–130.
- Sutter, R.P., Capage, D.A., Harrison, T.L., und Keen, W.A. (1973). Trisporic acid biosynthesis in separate plus and minus cultures of *Blakeslea trispora*: identification by Mucor assay of two mating type specific components. *J. Bacteriol.*, 114(3), 1074–1082.

- Sutter, R.P., Dadok, J., Bothner-By, A.A., Smith, R.R., und Mishra, P.K. (1989). Cultures of separated mating types of *Blakeslea trispora* make D and E forms of trisporic acids. *Biochemistry*, 28(9), 4060–4066.
- Tagua, V.G., Medina, H.R., Martín-Domínguez, R., Eslava, A.P., Corrochano, L.M., Cerdá-Olmedo, E., und Idnurm, A. (2012). A gene for carotene cleavage required for pheromone biosynthesis and carotene regulation in the fungus *Phycomyces blakesleeanus*. *Fungal Genet. Biol.*, 49(5), 398–404.
- Teepe, H., Böttge, J.A., und Wöstemeyer, J. (1988). Isolation and electrophoretic analysis of surface proteins of the zygomycete *Absidia glauca*. *FEBS Lett.*, 234(1), 100–106.
- Timberlake, W.E. (1990). Molecular genetics of *Aspergillus* development. *Annu. Rev. Biochem.*, 24(5), 5–36.
- Tisch, D., und Schmoll, M. (2010). Light regulation of metabolic pathways in fungi. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 85(5), 1259–1277.
- Trinci, A.P.J. (1969). A Kinetic Study of the growth of *Aspergillus nidulans* and other Fungi. *J. Gen. Microbiol.*, 57, 1–24.
- van den Ende, H. (1968). Relationship between sexuality and carotene synthesis in *Blakeslea trispora*. *J. Bacteriol.*, 96(4), 1298–1303.
- Velayos, A., Blasco, J.L., Álvarez, M.I., Iturriaga, E.A., und Eslava, A.P. (2000a). Blue-light regulation of phytoene dehydrogenase (*carB*) gene expression in *Mucor circinelloides*. *Planta*, 210(6), 938–946.
- Velayos, A., Eslava, A.P., und Iturriaga, E.A. (2000b). A bifunctional enzyme with lycopene cydase and phytoene synthase activities is encoded by the *carRP* gene of *Mucor circinelloides*. *Eur. J. Biochem.*, 267(17), 5509–5519.
- Velayos, A., Papp, T., Aguilar-Elena, R., Fuentes-Vicente, M., Eslava, A.P., Iturriaga, E.A., und Álvarez, M.I. (2003). Expression of the *carG* gene, encoding geranylgeranyl pyrophosphate synthase, is up-regulated by blue light in *Mucor circinelloides*. *Curr. Genet.*, 43(2), 112–120.
- Verdoes, J.C., Krubasik, K.P., Sandmann, G., und van Ooyen, A.J. (1999). Isolation and functional characterisation of a novel type of carotenoid biosynthetic gene from *Xanthophyllomyces dendrorhous*. *Mol. Gen. Genet.*, 262(3), 453–61.
- Vuillemin, P. (1903). Importance taxonomique de l'appareil zygosporé des Mucorinées. *Bull. La Société Mycol. Fr.*, 19, 106–118.



- Walther, G., Pawlowska, J., Alastruey-Izquierdo, A., Wrzosek, M., Rodriguez-Tudela, J.L., Dolatabadi, S., Chakrabarti, A., und de Hoog, G.S. (2013). DNA barcoding in *Mucorales*: an inventory of biodiversity. *Persoonia - Mol. Phylogeny Evol. Fungi*, 30(1), 11–47.
- Webster, J. (1983). Webster, Pilze Eine Einführung.pdf. In *Pilze: Eine Einführung* (1st ed.) Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag, 175–197.
- Wenger, C.J., und Lilly, V.G. (1966). The effects of light on carotenogenesis, growth, and sporulation of *Syzygites megalocarpus*. *Mycologia*, 58(5), 170–174.
- Werkman, B.A. (1976). Localization and partial characterization of a sex-specific enzyme in homothallic and heterothallic *Mucorales*. *Arch. Microbiol.*, 213, 209–213.
- Werkman, B.A., und van den Ende, H. (1974). Trisporic acid Synthesis in homothallic and heterothallic *Mucorales*. *J. Gen. Microbiol.*, 273–278.
- Wetzel, J., Burmester, A., Kolbe, M., und Wöstemeyer, J. (2012). The mating-related loci *sexM* and *sexP* of the zygomycetous fungus *Mucor mucedo* and their transcriptional regulation by trisporoid pheromones. *Microbiology*, 158, 1016–23.
- Wetzel, J., Scheibner, O., Burmester, A., Schimek, C., und Wöstemeyer, J. (2009). 4-dihydrotrisporin-dehydrogenase, an enzyme of the sex hormone pathway of *Mucor mucedo*: purification, cloning of the corresponding gene, and developmental expression. *Eukaryot. Cell*, 8(1), 88–95.
- Whitehouse, H.L.K. (1949). Heterothallism and sex in the fungi. *Biol. Rev.*, 24(4), 411–447.
- Wicker, T., Sabot, F., Hua-Van, A., Bennetzen, J.L., Capy, P., Chalhoub, B., Flavell, A., Leroy, P., Morgante, M., Panaud, O., Paux, E., SanMiguel, P., und Schulman, A.H. (2007). A unified classification system for eukaryotic transposable elements. *Nat. Rev. Genet.*, 8(12), 973–982.
- Wilson, A.M., Wilken, P.M., van der Nest, M.A., Steenkamp, E.T., Wingfield, M.J., und Wingfield, B.D. (2015). Homothallism: an umbrella term for describing diverse sexual behaviours. *IMA Fungus*, 6(1), 207–214.
- Wöstemeyer, A., Teepe, H., und Wöstemeyer, J. (1990). Genetic interactions in somatic inter-mating type hybrids of the zygomycete *Absidia glauca*. *Curr. Genet.*, 17(2), 163–168.
- Wöstemeyer, J. (1985). Strain-dependent variation in ribosomal DNA arrangement in *Absidia glauca*. *Eur. J. Biochem.*, 146(2), 443–448.

- Wöstemeyer, J., und Brockhausen-Rohdemann, E. (1987). Inter-mating type protoplast fusion in the zygomycete *Absidia glauca*. *Curr. Genet.*, 12, 435–441.
- Wöstemeyer, J., Schimek, C., Wetzel, J., Burmester, A., Voigt, J., Schulz, E., Ellenberger, S., und Siegmund, L. (2016). Pheromone action in the fungal groups chytridiomycetes and zygomycetes and in the oophytes. In J. Wendland (Ed.), *The Mycota I* (3rd ed), Springer-Verlag, 203–234.
- Wöstemeyer, J., Wöstemeyer, A., Burmester, A., und Czempinski, K. (1995). Relationships between sexual processes and parasitic interactions in the host–pathogen system *Absidia glauca* – *Parasitella parasitica*. *Can. J. Bot.*, 73(S1), 243–250.
- Yagura, T., Makita, K., Yamamoto, H., Menck, C.F.M., und Schuch, A.P. (2011). Biological sensors for solar ultraviolet radiation. *Sensors*, 11(4), 4277–4294.
- Yun, S.-H., Yoder, O.C., und Turgeon, B.G. (2013). Structure and function of the mating-type locus in the homothallic ascomycete, *Didymella zae-maydis*. *J. Microbiol.*, 51(6), 814–820.
- Yun, S.H., Berbee, M.L., Yoder, O.C., und Turgeon, B.G. (1999). Evolution of the fungal self-fertile reproductive life style from self-sterile ancestors. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 96(10), 5592–5597.
- Zhang, L., Baasiri, R.A., und van Alfen, N.K. (1998). Viral repression of fungal pheromone precursor gene expression. *Mol. Cell. Biol.*, 18(2), 953–959.
- Zhong, G.-W., Jiang, P., Qiao, W.-R., Zhang, Y.-W., Wei, W.-F., und Lu, L. (2014). Protein phosphatase 2A (PP2A) regulatory subunits ParA and PabA orchestrate septation and conidiation and are essential for PP2A activity in *Aspergillus nidulans*. *Eukaryot. Cell*, 13(12), 1494–1506.

## 8 Abkürzungsverzeichnis

<i>algL</i>	Gen für Alginatlyase
ATCC	American Type Culture Collection
Blast	Basic Local Alignment Search Tool
CBS	Centraalbureau for Schimmelcultures, Utrecht, Niederlande
DAB	Diaminobutanon
FSU	Friedrich-Schiller-Universität Jena
HMG-Domäne	High Mobility Group-Domäne
IM	Induktionsmedium
IM	Induktionsmedium
JMRC	Jena Microbial Resource Collection
KT	Kreuzungstyp
MEX	Malzextraktmedium
MM	Minimalmedium
NBRC	Biological Resource Center, NITE
Put	Putrescin
<i>rnhA</i>	Gen für RNA Helicase
Spd	Spermidin
Spm	Spermin
SUP	supplementiertes Minimalmedium
SUP	supplementiertes Minimalmedium
<i>tptA</i>	Gen für Triosphosphat-Transporter
VKM-F	All-Russian Collection of Microorganisms, Moskau, Russland

## 9 Abbildungsverzeichnis

ABB. 1: PHYLOGENETISCHE VERWANDTSCHAFTSVERHÄLTNISSE IN DER GRUPPE DER OPISTHOKONTA.....	8
ABB. 2: SCHEMATISCHE DARSTELLUNG DER SEXUELLEN ENTWICKLUNG VON <i>MUCOR</i> <i>MUCEDO</i> .....	10
ABB. 3: STADIEN DER ZYGOSPOROGENESE VON <i>ZYGORHYNCHUS MOELLERI</i> .....	11
ABB. 4: STADIEN DER SPORANGIOSPOROGENESE VON <i>ZYGORHYNCHUS MOELLERI</i> .....	12
ABB. 5: BIOSYNTHESE VON B-CAROTIN.....	14
ABB. 6: GENERELLER AUFBAU DER WHITE-COLLAR (WC) PROTEINE VON <i>NEUROSPORA</i> <i>CRASSA</i> .....	16
ABB. 7: TRISPOROID-DERIVATE VON ZYGOMYCETEN.....	19
ABB. 8: SPALTUNG VON B-CAROTIN IN TRISPOROIDE, APOCAROTINOIDE UND APOTRISPOROIDE.....	20
ABB. 9: SYNTHESE DER TRISPOROIDE BEI DEM ZYGOMYCETEN <i>MUCOR MUCEDO</i> .....	22
ABB. 10: VERGLEICH DER <i>MAT</i> -LOCI (GESTRICHELTER KASTEN) UND DEREN UMGEBUNG EINIGER REPRÄSENTATIVER HOMO- UND HETEROTHALLISCHER ASCOMYCETEN	25
ABB. 11: STRUKTUR DER SEX LOCI EINIGER HOMO- UND HETEROTHALLISCHER MUCORALES.....	29
ABB. 12 STRUKTUR DER DURCH UVB- UND UVC-STRAHLUNG AUSGELÖSTEN PYRIMIDINDIMERE.....	31
ABB. 13: DURCH UV-STRAHLUNG HERVORGERUFENE DNA-SCHÄDEN.....	32
ABB. 14: SEXUELLE ENTWICKLUNG DES WILDTYPS VON <i>ZYGORHYNCHUS MOELLERI</i> .....	54
ABB. 15: FLUORESZENZMIKROSKOPIE DAPI-GEFÄRBTER MITOSPOREN VON <i>ZYGORHYNCHUS MOELLERI</i> .....	56
ABB. 16: KOLONIEMORPHOLOGIE DES WILDTYPES VON <i>ZYGORHYNCHUS MOELLERI</i> .....	56
ABB. 17: ALLGEMEINES SCHEMA DER SEXUELLEN ENTWICKLUNG DES HOMOTHALLISCHEN ZYGOMYCETEN <i>ZYGORHYNCHUS MOELLERI</i> .....	57
ABB. 18 WACHSTUM VON <i>ZYGORHYNCHUS MOELLERI</i> WILDTYP (WT) UND DEN UV- MUTANTEN AUF VERSCHIEDENEN NÄHMEDIEN.....	64
ABB. 19: KOLONIE- UND HYPHENMORPHOLOGIE VON UV-MUTANTE UV44.....	65
ABB. 20: KOLONIE- UND HYPHENMORPHOLOGIE VON UV-MUTANTE UV48.....	66
ABB. 21: KOLONIE- UND HYPHENMORPHOLOGIE DER UV-MUTANTE UV112.....	66
ABB. 22: KOLONIE- UND HYPHENMORPHOLOGIE VON UV-MUTANTE UV127.....	67
ABB. 23: CALCOFLUOR-FÄRBUNG DER SPORANGIEN VON UV127.....	67

ABB. 24: KOLONIEMORPHOLOGIE DER METHIONIN AUXOTROPHEN MUTANTE UV127..	68
ABB. 25: PHASENKONTRAST DER ZYGOSPOREN STRUKTUR UND ORNAMENTIERUNG VON <i>ZYGORHYNCHUS MOELLERI</i> .....	68
ABB. 26: SUPPLEMENTIERUNG DES SEXUELLEN UND ASEXUELLEN DEFEKTS DER UV- MUTANTE UV127 MIT METHIONIN .....	69
ABB. 27: KOLONIE- UND HYPHENMORPHOLOGIE VON UV-MUTANTE UV139.....	70
ABB. 28: KOLONIE- UND HYPHENMORPHOLOGIE VON UV-MUTANTE UV542.....	71
ABB. 29: CALCOFLUOR-FÄRBUNG DER HYPHEN VON UV542 .....	71
ABB. 30: KOLONIE- UND HYPHENMORPHOLOGIE VON UV-MUTANTE UV554.....	72
ABB. 31: GESAMTSPORENANZAHL PRO 1 CM <sup>2</sup> MYZEL VON <i>ZYGORHYNCHUS MOELLERI</i> WILDTYP UND UV-MUTANTEN.....	73
ABB. 32: KEIMRATE FRISCH GEERNTETER MITOSPOREN VON <i>ZYGORHYNCHUS MOELLERI</i> WILDTYP (WT) UND DEN UV-MUTANTEN.....	74
ABB. 33: AKKUMULATION EINES GELB-ORANGE-FARBENEN PIGMENTS IN UV139 UND UV542 .....	75
ABB. 34: UV/VIS ABSORPTIONSSPEKTRUM DES EXTRAHIERTEN CAROTINS VOM WILDTYP (WT) UND DEN BEIDEN UV-MUTANTEN VON <i>ZYGORHYNCHUS MOELLERI</i> IN ABHÄNGIGKEIT VON DER KULTIVIERUNGSBEDINGUNG.....	76
ABB. 35: CAROTIN-KONZENTRATION PRO GRAMM TROCKENMASSE (TM) VON <i>ZYGORHYNCHUS MOELLERI</i> WILDTYP (WT) UND DEN BEIDEN MUTANTEN (UV139, UV542) IN ABHÄNGIGKEIT DER KULTIVIERUNGSBEDINGUNG .....	76
ABB. 36: EINFLUSS VON METHIONINSNTHESE-INTERMEDIATE AUF DIE ZYGOSPOREN- BILDUNG VON UV127.....	77
ABB. 37: WIRKUNG DES METHYLTRANSFERASE-INHIBITORS 5-AZACYTIDIN (5-AZA) AUF DIE ZYGOSPORENBILDUNG DES WILDTYPS VON <i>ZYGORHYNCHUS MOELLERI</i> .....	78
ABB. 38: EINFLUSS DES METHYLTRANSEASE-INHIBITORS ETHIONIN AUF DIE ZYGOSPORENBILDUNG VON <i>ZYGORHYNCHUS MOELLERI</i> WILDTYP (B) UND UV127 (A).....	78
ABB. 39: METHIONIN BIOSYNTHESEWEG VON <i>ASPERGILLUS NIDULANS</i> . ....	79
ABB. 40: TYPISCHES ABSORPTIONSSPEKTRUM DER EXTRAHIERTEN TRISPOROIDE (pH 2- EXTRAKT) VON <i>ZYGORHYNCHUS MOELLERI</i> . ....	81
ABB. 41: GESAMTMENGE AN TRISPOROIDEN (TA) IM pH 2-EXTRAKT. ....	84
ABB. 42: GESAMTMENGE AN TRISPOROIDEN (TA) IM pH 8-EXTRAKT. ....	84

ABB. 43: DC-CHROMATOGRAMME VON JE 40 µG pH 2- UND pH 8-EXTRAKT VON <i>BLAKESLEA TRISPORE</i> , B. T. (+/-), <i>ZYGORHYNCHUS MOELLERI</i> WILDTYP (WT) UND DEN UV-MUTANTEN.....	89
ABB. 44: FÄRBUNG DER SEXUELLEN INTERAKTION VON <i>PARASITELLA PARASITICA</i> UND <i>ABSIDIA GLAUCA</i> MIT FITC .....	91
ABB. 45: FÄRBUNG DER SEXUELLEN STRUKTUREN VON <i>ZYGORHYNCHUS MOELLERI</i> MIT FITC).....	91
ABB. 46: EINFLUSS VON POLYAMINEN AUF DIE ZYGOSPOREN-BILDUNG IM WILDTYP VON <i>ZYGORHYNCHUS MOELLERI</i> .....	92
ABB. 47: DIE POLYAMIN-BIOSYNTHESE IN <i>NEUROSPORA CRASSA</i> UND <i>SACCHAROMYCES</i> <i>CEREVISIAE</i> .....	93
ABB. 48: EINFLUSS DES ORNITHIN-SYNTASE-INHIBITORS DIAMINOBTANON (DAB) AUF DIE ZYGOSPOREN-BILDUNG UND DAS WACHSTUM VON <i>ZYGORHYNCHUS</i> <i>MOELLERI</i> . ....	94
ABB. 49: REAKTION DER TRANSGLUTAMINASE (TGASE).....	95
ABB. 50: FÄRBUNG VON INTRAZELLULÄREM CALCIUM IN SEXUELLEN UND PARASITISCHEN INTERAKTIONEN VON <i>ABSIDIA GLAUCA</i> UND <i>PARASITELLA</i> <i>PARASITICA</i> MIT CTC .....	96
ABB. 51: FÄRBUNG VON INTRAZELLULÄREM CALCIUM DER SEXUELLEN STRUKTUREN VON <i>ZYGORHYNCHUS MOELLERI</i> MIT CTC.....	97
ABB. 52: EINFLUSS VON METHYLAMIN AUF DIE ZYGOSPOREN-BILDUNG UND DAS WACHSTUM VON <i>ZYGORHYNCHUS MOELLERI</i> .....	98
ABB. 53: EINFLUSS VON CYSTEAMIN AUF DIE ZYGOSPOREN-BILDUNG UND DAS WACHSTUM VON <i>ZYGORHYNCHUS MOELLERI</i> .....	98
ABB. 54: FÄRBUNG SEXUELLER STRUKTUREN VON <i>ABSIDIA GLAUCA</i> UND <i>ZYGORHYNCHUS</i> <i>MOELLERI</i> MIT FITC-CADAVERIN. ....	99
ABB. 55: FÄRBUNG DER SEXUELLEN STRUKTUREN VON <i>ABSIDIA GLAUCA</i> MIT FITC- CADAVERIN NACH INKUBATION MIT DEM INHIBITOR CYSTAMIN. ....	100
ABB. 56: KREUZUNGSTYP-LOCI VON HOMOTHALLISCHEN (UNTERSTRICHEN) UND HETEROTHALLISCHEN MUCORALES.. ....	102
ABB. 57: <i>SEX</i> -LOCUS DES HOMOTHALLISCHEN ZYGOMYCETEN <i>ZYGORHYNCHUS</i> <i>HETEROGAMUS</i> .....	108
ABB. 58: ALIGNMENT UND CONSENSUS-SEQUENZ DER TPTA GENE (PROTEIN IDS 63523 UND 349569) VON <i>ZYGORHYNCHUS HETEROGAMUS</i> .....	111

ABB. 59: ALIGNMENT UND CONSENSUS-SEQUENZ DER ALGL GENE (PROTEIN IDs 453571 UND 548517) VON <i>ZYGORHYNCHUS HETEROGAMUS</i> .	115
ABB. 60: MECHANISMUS DER MOBILISIERUNG VON DNA-ABSCHNITTEN DER BEIDEN KLASSEN TRANSPONIERBARER ELEMENTE, RETROTRANSPONS UND DNA-TRANSPOSONS.	118
ABB. 61: PARTIELLER <i>SEX</i> -LOCUS DES HOMOTHALLISCHEN ZYGOMYCETEN <i>ZYGORHYNCHUS MOELLERI</i> .	120
ABB. 62: PHYLOGENIE DER HMG DOMÄNEN IN PUTATIVEN SEX-KODIERENDEN TRANSKRIPTIONSFAKTOREN..	122
ABB. 63: CLUSTALW ALIGNMENT DER SEXM UND SEXP SEQUENZEN MIT KONSERVIERTEN HMG-DOMÄNEN (IPR009071) IN MUCORALES.	128

## 10 Anhang

	.... ....  .... ....  .... ....  .... ....
	10 20 30 40
jgi Morel2 72862 Morel1.e_gw1.	VDHGKTTTLTA AITKTLASLG QAEFKDYNQI DKAPEEKARG
gi 1021067544 emb SAL96438.1	CGGIDKRTIE KFEKEAAELG KGSFKYAWVL DKLKAERERG
jgi Absrep1 67059 CE67058_1966	CGGIDKRTIE KFEKEAAELG KGSFKYAWVL DKLKAERERG
jgi Bacci1 227725 estExt_Genew	CGGIDKRTIE KFEKEAAELG KGSFKYAWVL DKLKAERERG
jgi Blatri1 388912 fgenes1_kg	CGGIDKRTIE KFEKEAAELG KGSFKYAWVL DKLKAERERG
jgi Hesve2finisherSC 1382372 e	CGGIDKRTIE KFEKEAAELG KGSFKYAWVL DKLKAERERG
gi 661181864 emb CDH55674.1  e	CGGIDKRTIE KFEKEAAELG KGSFKYAWVL DKLKAERERG
jgi Lichy1 41362 CE41361_17368	CGGIDKRTIE KFEKEAAELG KGSFKYAWVL DKLKAERERG
gi 758357232 dbj GAN00818.1  h	CGGIDKRTIE KFEKEAAELG KGSFKYAWVL DKLKAERERG
jgi Mucci2 156959 fgenes1_kg.	CGGIDKRTIE KFEKEAAELG KGSFKYAWVL DKLKAERERG
gi 11078202 gb AAG29017.1 AF15	CGGIDKRTIE KFEKEAAELG KGSFKYAWVL DKLKAERERG
jgi Mycafr1 850565 fgenes1_kg	CGGIDKRTIE KFEKEAAELG KGSFKYAWVL DKLKAERERG
gi 758366200 emb CEP11307.1  h	CGGIDKRTIE KFEKEAAELG KGSFKYAWVL DKLKAERERG
jgi Phybl2 171631 fgenes1_pg.	CGGIDKRTIE KFEKEAAELG KGSFKYAWVL DKLKAERERG
jgi Synrac1 452778 estExt_Gene	CGGIDKRTIE KFEKEAAELG KGSFKYAWVL DKLKAERERG
gi 356668389 gb AET35412.1  e1	CGGIDKRTIE KFEKEAAELG KGSFKYAWVL DKLKAERERG
jgi Thaele1 392638 estExt_Gene	CGGIDKRTIE KFEKEAAELG KGSFKYAWVL DKLKAERERG
jgi Umbra1 185567 estExt_Genew	CGGIDKRTIE KFEKEAAELG KGSFKYAWVL DKLKAERERG
jgi Zyghet1 521330 gm1.1988_g	CGGIDKRTIE KFEKEAAELG KGSFKYAWVL DKLKAERERG
gi 210161828 gb ACJ09594.1  tr	CGGIDKRTIE KFEKEAAELG KGSFKYAWVL DKLKAERERG
Zygmo - 1: 1089 MW: 39701.03	CGGIDKRTIE KFEKEAAELG KGSFKYAWVL DKLKAERERG
gi 384493292 gb EIE83783.1  e1	CGGIDKRTIE KFEKEAAELG KGSFKYAWVL DKLKAERERG
gi 11078246 gb AAG29039.1 AF15	CGGIDKRTIE KFEKEAAELG KGSFKYAWVL DKLKAERERG
gi 729701219 emb CEJ01865.1  P	CGGIDKRTIE KFEKEAAELG KGSFKYAWVL DKLKAERERG
gi 11078146 gb AAG28989.1 AF15	CGGIDKRTIE KFEKEAAELG KGSFKYAWVL DKLKAERERG
	.... ....  .... ....  .... ....  .... ....
	50 60 70 80
jgi Morel2 72862 Morel1.e_gw1.	ITISTAHVEY ETANRHYAHV DCPGHADYIK NMITGAAQMD
gi 1021067544 emb SAL96438.1	ITIDIALWKF ETPKYHVTVI DAPGHRDFIK NMITGTSQAD
jgi Absrep1 67059 CE67058_1966	ITIDIALWKF ETPKYHVTVI DAPGHRDFIK NMITGTSQAD
jgi Bacci1 227725 estExt_Genew	ITIDIALWKF ETPKYHVTVI DAPGHRDFIK NMITGTSQAD
jgi Blatri1 388912 fgenes1_kg	ITIDIALWKF ETPKYHVTVI DAPGHRDFIK NMITGTSQAD
jgi Hesve2finisherSC 1382372 e	ITIDIALWKF ETPKYHVTVI DAPGHRDFIK NMITGTSQAD
gi 661181864 emb CDH55674.1  e	ITIDIALWKF ETPKYHVTVI DAPGHRDFIK NMITGTSQAD
jgi Lichy1 41362 CE41361_17368	ITIDIALWKF ETPKYHVTVI DAPGHRDFIK NMITGTSQAD
gi 758357232 dbj GAN00818.1  h	ITIDIALWKF ETPKYHVTVI DAPGHRDFIK NMITGTSQAD
jgi Mucci2 156959 fgenes1_kg.	ITIDIALWKF ETPKYHVTVI DAPGHRDFIK NMITGTSQAD
gi 11078202 gb AAG29017.1 AF15	ITIDIALWKF ETPKYHVTVI DAPGHRDFIK NMITGTSQAD
jgi Mycafr1 850565 fgenes1_kg	ITIDIALWKF ETPKYHVTVI DAPGHRDFIK NMITGTSQAD
gi 758366200 emb CEP11307.1  h	ITIDIALWKF ETPKYHVTVI DAPGHRDFIK NMITGTSQAD
jgi Phybl2 171631 fgenes1_pg.	ITIDIALWKF ETPRYMVTVI DAPGHRDFIK NMITGTSQAD
jgi Synrac1 452778 estExt_Gene	ITIDIALWKF ETPKYHVTVI DAPGHRDFIK NMITGTSQAD
gi 356668389 gb AET35412.1  e1	ITIDIALWKF ETPKYQITVI DAPGHRDFIK NMITGTSQAD
jgi Thaele1 392638 estExt_Gene	ITIDIALWKF ETPKYMVTVI DAPGHRDFIK NMITGTSQAD
jgi Umbra1 185567 estExt_Genew	ITIDIALWKF ETPKYHVTVI DAPGHRDFI- -----
jgi Zyghet1 521330 gm1.1988_g	ITIDIALWKF ETPKYHVTVI DAPGHRDFIK NMITGTSQAD
gi 210161828 gb ACJ09594.1  tr	ITIDIALWKF ETPKYHVTVI DAPGHRDFIK NMITGTSQAD
Zygmo - 1: 1089 MW: 39701.03	ITIDIALWKF ETPKYHVTVI DAPGHRDFIK NMITGTSQAD
gi 384493292 gb EIE83783.1  e1	ITIDIALWKF ETPKYQITVI DAPGHRDFIK NMITGTSQAD
gi 11078246 gb AAG29039.1 AF15	ITIDIALWKF ETPKYQITVI DAPGHRDFIK NMITGTSQAD
gi 729701219 emb CEJ01865.1  P	ITIDIALWKF ETPKYHVTVI DAPGHRDFIK NMITGTSQAD
gi 11078146 gb AAG28989.1 AF15	ITIDIALWKF ETPKYHVTVI DAPGHRDFIK NMITGTSQAD
	.... ....  .... ....  .... ....  .... ....
	90 100 110 120
jgi Morel2 72862 Morel1.e_gw1.	GAIIVVAAT- ---DGQMP-- -----QTREH LLLAKQVGIQ
gi 1021067544 emb SAL96438.1	CGILIIAAG- ---TGEFEAG ISKDGQTREH ALLAFTLGVR
jgi Absrep1 67059 CE67058_1966	CGILIIAAG- ---TGEFEAG ISKDGQTREH ALLAFTLGVR
jgi Bacci1 227725 estExt_Genew	CAILIIAGG- ---TGEFEAG ISKDGQTREH ALLAFTLGVR
jgi Blatri1 388912 fgenes1_kg	CAILIIAGG- ---TGEFEAG ISKDGQTREH ALLAFTLGVR



## Anhang

jgi|Hesve2finisherSC|1382372|e  
gi|661181864|emb|CDH55674.1| e  
jgi|Lichy1|41362|CE41361\_17368  
gi|758357232|dbj|GAN00818.1| h  
jgi|Mucci2|156959|fgenesh1\_kg.  
gi|11078202|gb|AAG29017.1|AF15  
jgi|Mycafr1|850565|fgenesh1\_kg  
gi|758366200|emb|CEP11307.1| h  
jgi|Phyb12|171631|fgenesh1\_pg.  
jgi|Synrac1|452778|estExt\_Gene  
gi|356668389|gb|AET35412.1| e1  
jgi|Thaele1|392638|estExt\_Gene  
jgi|Umbra1|185567|estExt\_Genew  
jgi|Zyghet1|521330|gml\_1.1988\_g  
gi|210161828|gb|ACJ09594.1| tr  
Zygmo - 1: 1089 MW: 39701.03  
gi|384493292|gb|EIE83783.1| e1  
gi|11078246|gb|AAG29039.1|AF15  
gi|729701219|emb|CEJ01865.1| P  
gi|11078146|gb|AAG28989.1|AF15

CGILIIAAG-	---TGEFEAG	ISKDGQTREH	ALLAFTLGVR
CGILIIAAG-	---TGEFEAG	ISKDGQTREH	ALLAFTLGVR
CGILIIAAG-	---TGEFEAG	ISKDGQTREH	ALLAFTLGVR
CAILIIAGG-	---TGEFEAG	ISKDGQTREH	ALLAFTLGVR
CAILIIAGG-	---TGEFEAG	ISKDGQTREH	ALLAFTLGVR
CAILIIAGG-	---TGEFEAG	ISKDGQTREH	ALLAFTLGVR
CGILIIAAG-	---TGEFEAG	ISKDGQTREH	ALLAFTLGVR
CGILIIAAG-	---TGEFEAG	ISKDGQTREH	ALLAFTLGVR
CGILIIAAG-	---TGEFEAG	ISKDGQTREH	ALLAFTLGVR
CAILIIAGG-	---TGEFEAG	ISKDGQTREH	ALLAFTLGVR
CAILIIAGG-	---TGEFEAG	ISKDGQTREH	ALLAFTLGVR
CAILIIAGG-	---TGEFEAG	ISKDGQTREH	ALLAFTLGVR
CA----ILII	AGGTGEFEAG	ISKDGQTREH	ALLAFTLGVR
CGILIIAAG-	---TGEFEAG	ISKDGQTREH	ALLAFTLGVR
CAILIIAGG-	---TGEFEAG	ISKDGQTREH	ALLAFTLGVR
CA----ILII	AGGTGEFEAG	ISKDGQTREH	ALLAFTLGVR
CA----ILII	AGGTGEFEAG	ISKDGQTREH	ALLAFTLGVR
CG----ILII	AAGTGEFEAG	ISKDGQTREH	ALLAFTLGVR
CAILIIAGG-	---TGEFEAG	ISKDGQTREH	ALLAFTLGVR

jgi|Morel2|72862|Morel1.e\_gw1.  
gi|1021067544|emb|SAL96438.1|  
jgi|Absrepl1|67059|CE67058\_1966  
jgi|Baccil1|227725|estExt\_Gene  
jgi|Blatril1|388912|fgeneshl\_kg  
jgi|Hesve2finisherSC|1382372|e  
gi|661181864|emb|CDH55674.1| e  
jgi|Lichy1|41362|CE41361\_17368  
gi|758357232|dbj|GAN00818.1| h  
jgi|Mucci2|156959|fgeneshl\_kg.  
gi|11078202|gb|AAG29017.1|AF15  
jgi|Mycafr1|850565|fgeneshl\_kg  
gi|758366200|emb|CEP11307.1| h  
jgi|Phybl2|171631|fgeneshl\_pg.  
jgi|Synrac1|452778|estExt\_Gene  
gi|356668389|gb|AET35412.1| e1  
jgi|Thaelel1|392638|estExt\_Gene  
jgi|Umbra1|185567|estExt\_Gene  
jgi|Zyghet1|521330|gml\_1.1988\_g  
gi|210161828|gb|ACJ09594.1| tr  
Zygmo - 1: 1089 MW: 39701.03  
gi|384493292|gb|EIE83783.1|e1  
gi|11078246|gb|AAG29039.1|AF15  
gi|729701219|emb|CEJ01865.1| P  
gi|11078146|gb|AAG28989.1|AF15

..... .....	..... .....	..... .....	..... .....
130	140	150	16
KLVVVFINKVD	AVDDPE-MLE	LVDMEMRDVL	TTYGFDGENT
QLIVAINKMD	STKWSEQRFN	EIIKEVSGFI	KKIGFNPKSV
QLIVAINKMD	STKWSEQRFN	EIIKEVSGFI	KKIGFNPKSV
QLIVAINKMD	TTKWSEARYN	EIVKEVSSFI	KKIGFNPKSV
QLIVAINKMD	TTKWSEARYT	EIVKEVSSFI	KKIGFNPKAV
QLIVAINKMD	STKWSEARFN	EIVKEVSAFI	KKIGFNPKSV
QLIVAINKMD	STKYSEARYN	EIVKEVSTFI	KKIGFNPKSV
QLIVAINKMD	STKYSEARYN	EIVKEVSTFI	KKIGFNPKSV
QLIVAINKMD	TTKWN----	-----	-----
QLIVAINKMD	TTKWSQDRYN	EIVKEVSGFI	KKIGFNPKSV
QLIVAINKMD	TTKWSEARYN	EIVKEVSSFI	KKIGFNPKSV
QLIVAINKMD	TTKWSEARYN	EIVKEVSSFI	KKIGFNPKSV
QLIVAINKMD	TTKWSQDRYN	EIVKEVSNFI	KKIGFNPKGV
QLIVAINKMD	TTKWSEARYN	EIVKEVSSFI	KKIGFNPKSV
QLIVAINKMD	STKYSEARYN	EIVKEVSTFI	KKIGFNPKSV
QLIVAVNKMD	TTKWSEARFN	EIIKEVSSFI	KKIGYNPKSV
QLIVAINKMD	TTKWSEARYT	EIVKEVSSFI	KKIGFNPKSV
-----	-----	-----	-----
QLIVAINKMD	TTKWSEARYN	EIVKEVSSFI	KKIGFNPKSV
QLIVAINKMD	STKYSEARYN	EIVKEVSTFI	KKIGFNPKSV
QLIVAINKMD	TTKWSEARYN	EIVKEVSSFI	KKIGFNPKSV
QLIVAVNKMD	TTKWSEARFN	EIVKEVSSFI	KKIGYNPKSV
QLIVAVNKMD	TTKWSEARFN	EIVKEVSSFI	KKIGYNPKSV
QLIVAINKMD	TTKWSEARYN	EIVKEVSSFI	KKIGYNPKSV
QLIVAINKMD	TTKWSEARYT	EIVKEVSSFI	KKIGFNPKAV

jgi|Morel2|72862|Morel1.e\_gw1.  
gi|1021067544|emb|SAL96438.1|  
jgi|Absrepl1|67059|CE67058\_1966  
jgi|Bacci1|227725|estExt\_Genew  
jgi|Blatril1|388912|fgenesht1\_kg  
jgi|Hesve2finisherSC|1382372|e  
gi|661181864|emb|CDH55674.1|  
jgi|Lichyl1|41362|CE41361\_17368  
gi|758357232|dbj|GAN00818.1| h  
jgi|Mucci2|156959|fgenesht1\_kg.  
gi|11078202|gb|AAG29017.1|AF15  
jgi|Mycafr1|850565|fgenesht1\_kg  
gi|758366200|emb|CEP11307.1| h  
jgi|Phybl2|171631|fgenesht1\_pg.  
jgi|Synrac1|452778|estExt\_Gene  
gi|356668389|gb|AET35412.1| el  
jgi|Thaele1|392638|estExt\_Gene

..... .....	..... .....	..... .....	..... .....
170	180	190	20
PIIMGSALCA	LE-----	-----GRQK	EIGEDAIMKL
PFVPISGWHG	DNMLEESTNM	PWYKGWNKET	KAGAKSGKTL
PFVPISGWHG	DNMLDESTNM	PWYKGWNKET	KAGAKSGKTL
PFVPISGWHG	DNMLEESTNM	PWFKGWNKET	KAGAKTGKTL
PFVPISGWHG	DNMLEESTNM	PWFKGWKKET	KAGEKSGKTL
PFVPISGWHG	DNMLEESGNM	PWYKGWNKET	KAGAKSGKTL
PFVPISGWNG	DNMLEESTNM	PWFKGWNKET	KAGAKTGKTL
PFVPISGWNG	DNMLEESTNM	PWFKGWNKET	KAGAKTGKTL
-----	-----	-----	-----
PFVPISGWHG	DNMLDESTNM	PWFKGWNKET	KAGSKTGKTL
PFVPISGWHG	DNMLEESVNM	GWFKGWNKET	KAGSKTGKTL
PFVPISGWHG	DNMLDESNNM	PWFKGWTKET	KAGSKTGKTL
PFVPISGWHG	DNMLEESQNM	PWFKGWNKET	KAGAKTGKTL
PFVPISGWHG	DNMLEESVNM	PWFKGWTKET	KAGVKTGKTL
PFVPISGWNG	DNMLEESPMM	PWFKGWKKET	KAGEKSGKTL
PFVPISGWHG	DNMLEESTNM	PWYKGWAKET	KAGAKSGKTL
PFVPISGWHG	DNMLDESKNM	GWFKGWTKET	KAGSKTGKTL

jgi Umbra1 185567 estExt_Genew	-----	-----	-----	-----
jgi Zyghet1 521330 gm1.1988_g	PFVPISGWHG	DNMLEESKNM	PWFKGWNKET	KAGAKTGKTL
gi 210161828 gb ACJ09594.1  tr	PFVPISGWNG	DNMLEESTNM	PWFKGWTKET	KAGAKSGKTL
Zygmo - 1: 1089 MW: 39701.03	PFVPISGWHG	DNMLEESKNM	PWFKGWNKET	KAGAKTGKTL
gi 384493292 gb EIE83783.1  e1	PFVPISGWHG	DNMLEESTNM	PWYKGWNKET	KAGAKSGKTL
gi 11078246 gb AAG29039.1 AF15	PFVPISGWHG	DNMLEESTNM	PWYKGWNKET	KAGAKSGKTL
gi 729701219 emb CEJ01865.1  P	PFVPISGWHG	DNMLEESTNM	PWFKGWTKET	KAGNKTGKTL
gi 11078146 gb AAG28989.1 AF15	PFVPISGWHG	DNMLEESTNM	PWFKGWKKET	KAGEKTGKTL
	.....	.....	.....	.....
	210	220	230	240
jgi More12 72862 More11.e_gw1.	MEAVDTHIDT	PVRDFDKPFL	MPVEDVFSIS	GRGTVATGRV
gi 1021067544 emb SAL96438.1	LDAID-AIDP	PQRPSDKPLR	LPLQDVYKIG	GIGTVPVGRV
jgi Absrep1 67059 CE67058_1966	LDAID-AIDP	PQRPSDKPLR	LPLQDVYKIG	GIGTVPVGRV
jgi Baccil1 227725 estExt_Genew	LEAID-NIEP	PSRPVDKPLR	LPLQDVYKIG	GIGTVPVGRV
jgi Blatri1 388912 fgenesht_kg	LEAID-AIEP	PVRPSDKPLR	LPLQDVYKIG	GIGTVPVGRV
jgi Hesve2finisherSC 1382372 e	LDAID-AIDP	PTRPSDKPLR	LPLQDVYKIG	GIGTVPVGRV
gi 661181864 emb CDH55674.1  e	LEAID-NIDP	PVRPSDKPLR	LPLQDVYKIG	GIGTVPVGRV
jgi Lichy1 41362 CE41361_17368	LEAID-NIDP	PVRPSDKPLR	LPLQDVYKIG	GIGTVPVGRV
gi 758357232 dbj GAN00818.1  h	LEAID-NIDP	-----	-----	-----
jgi Mucci2 156959 fgenesht_kg.	LEAID-AIEP	PVRPSDKPLR	LPLQDVYKIG	GIGTVPVGRV
gi 11078202 gb AAG29017.1 AF15	LEAID-AIDP	PSRPVDKPLR	LPLQDVYKIG	GIGTVPVGRV
jgi Mycafr1 850565 fgenesht_kg	LEAID-AIDP	PTRPSDKPLR	LPLQDVYKIG	GIGTVPVGRV
gi 758366200 emb CEP11307.1  h	LEAID-SIEP	PSRPVDKPLR	LPLQDVYKIG	GIGTVPVGRV
jgi Phybl2 171631 fgenesht_pg.	LEAID-NIDP	PVRPSDKPLR	LPLQDVYKIG	GIGTVPVGRV
jgi Synrac1 452778 estExt_Gene	LEAID-NIDP	PVRPSDKPLR	LPLQDVYKIG	GIGTVPVGRV
gi 356668389 gb AET35412.1  e1	LEAID-NIDP	PTRPSDKPLR	LPLQDVYKIG	GIGTVPVGRV
jgi Thaele1 392638 estExt_Gene	LEAID-AIEP	PVRPSDKPLR	LPLQDVYKIG	GIGTVPVGRV
jgi Umbra1 185567 estExt_Genew	-----	-----	-----	-----
jgi Zyghet1 521330 gm1.1988_g	LEAID-AIDP	PTRPSDKPLR	LPLQDVYKIG	GIGTVPVGRV
gi 210161828 gb ACJ09594.1  tr	LEAID-NIDP	PVRPSDKPLR	LPLQDVYKIG	GIGTVPVGRV
Zygmo - 1: 1089 MW: 39701.03	LEAID-AIDP	PTRPSDKPLR	LPLQDVYKIG	GIGTVPVGRV
gi 384493292 gb EIE83783.1  e1	LDAID-NIDP	PTRPSDKPLR	LPLQDVYKIG	GIGTVPVGRV
gi 11078246 gb AAG29039.1 AF15	LDAID-NIDP	PTRPSDKPLR	LPLQDVYKIG	GIGTVPVGRV
gi 729701219 emb CEJ01865.1  P	LEAID-NIDP	PTRPSDKPLR	LPLQDVYKIG	GIGTVPVGRV
gi 11078146 gb AAG28989.1 AF15	LEAID-AIEP	PVRPSDKPLR	LPLQDVYKIG	GIGTVPVGRV
	.....	.....	.....	.....
	250	260	270	280
jgi More12 72862 More11.e_gw1.	ERGTITKGAE	IEVVG----	-----	-----
gi 1021067544 emb SAL96438.1	ETGVKAGMV	VTFA-----	-----	-----
jgi Absrep1 67059 CE67058_1966	ETGVKAGMV	VTFA-----	-----	-----
jgi Baccil1 227725 estExt_Genew	ETGVKAGMV	VTFA-----	-----	-----
jgi Blatri1 388912 fgenesht_kg	ETGVKAGMV	VTFA-----	-----	-----
jgi Hesve2finisherSC 1382372 e	ETGVKAGMV	VNFA-----	-----	-----
gi 661181864 emb CDH55674.1  e	ETGVKPGMV	VTFA-----	-----	-----
jgi Lichy1 41362 CE41361_17368	-----	-----	-----	-----
gi 758357232 dbj GAN00818.1  h	-----	-----	-----	-----
jgi Mucci2 156959 fgenesht_kg.	ETGTIKAGMV	VNFA-----	-----	-----
gi 11078202 gb AAG29017.1 AF15	ETGTIKAGMV	VNFA-----	-----	-----
jgi Mycafr1 850565 fgenesht_kg	ETGVKAGMV	VTFA-----	-----	-----
gi 758366200 emb CEP11307.1  h	ETGVKAGMV	VTFA-----	-----	-----
jgi Phybl2 171631 fgenesht_pg.	ETGIIKAGMI	VNFA-----	-----	-----
jgi Synrac1 452778 estExt_Gene	ETGVKAGMV	VTFA-----	-----	-----
gi 356668389 gb AET35412.1  e1	ETGVKAGMV	VTFA-----	-----	-----
jgi Thaele1 392638 estExt_Gene	ETGTIKAGMV	VNFA-----	-----	-----
jgi Umbra1 185567 estExt_Genew	-----	-----	-----	-----
jgi Zyghet1 521330 gm1.1988_g	ETGIIKAGMV	VNFA---PAA	VTTEVKSSEM	HHETLVEG-L
gi 210161828 gb ACJ09594.1  tr	ETGVKPGMV	VTFA-----	-----	-----
Zygmo - 1: 1089 MW: 39701.03	ETGIIKAGMV	VNFA-----	-----	-----
gi 384493292 gb EIE83783.1  e1	ETGVKAGMV	VTFA---AA	VTTEVKSSEM	HHETLSEG-L
gi 11078246 gb AAG29039.1 AF15	ETGVKAGMV	VTFA---AA	VTTEVKSSEM	HHETLSEG-L
gi 729701219 emb CEJ01865.1  P	ETGVKAGMV	VTFA---PAN	VTTEVKSSEM	HHETLAEG-L
gi 11078146 gb AAG28989.1 AF15	ETGVKAGMV	VTFA-----	-----	-----
	.....	.....	.....	.....
	290	300	310	320

jgi Morel2 72862 Morel1.e_gwl.	-----	-----	-----	-----
gi 1021067544 emb SAL96438.1	-----	-----	-----	-----
jgi Absrep1 67059 CE67058_1966	-----	-----	-----	-----
jgi Bacci1 227725 estExt_Genew	-----	-----	-----	-----
jgi Blatri1 388912 fgenesht1_kg	-----	-----	-----	-----
jgi Hesve2finisherSC 1382372 e	-----	-----	-----	-----
gi 661181864 emb CDH55674.1  e	-----	-----	-----	-----
jgi Lichy1 41362 CE41361_17368	-----	-----	-----	-----
gi 758357232 dbj GAN00818.1  h	-----	-----	-----	-----
jgi Mucci2 156959 fgenesht1_kg.	-----	-----	-----	-----
gi 11078202 gb AAG29017.1 AF15	-----	-----	-----	-----
jgi Mycafr1 850565 fgenesht1_kg	-----	-----	-----	-----
gi 758366200 emb CEP11307.1  h	-----	-----	-----	-----
jgi Phybl2 171631 fgenesht1_pg.	-----	-----	-----	-----
jgi Synrac1 452778 estExt_Gene	-----	-----	-----	-----
gi 356668389 gb AET35412.1  e1	-----	-----	-----	-----
jgi Thaele1 392638 estExt_Gene	-----	-----	-----	-----
jgi Umbra1 185567 estExt_Genew	-----	-----	-----	-----
jgi Zyghet1 521330 gm1.1988_g	PGDNVGFNVK	NVSVKDIRRG	NVCSDSKNDP	AKESASFLAQ
gi 210161828 gb ACJ09594.1  tr	-----	-----	-----	-----
Zygmo - 1: 1089 MW: 39701.03	-----	-----	-----	-----
gi 384493292 gb EIE83783.1  e1	PGDNVGFNVK	NVSVKDIRRG	NVCSDSKNDP	AKEAGSFTAQ
gi 11078246 gb AAG29039.1 AF15	PGDNVGFNVK	NVSVKDIRRG	NVCSDSKNDP	AKEAGSFTAQ
gi 729701219 emb CEJ01865.1  P	PGDNVGFNVK	NVSVKDIRRG	NVCSDSKNDP	AKESGSFTAQ
gi 11078146 gb AAG28989.1 AF15	-----	-----	-----	-----
	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....
	330	340	350	360
jgi Morel2 72862 Morel1.e_gwl.	-----	-----	----MGPSFK	TILTGIEMFH
gi 1021067544 emb SAL96438.1	-----	-----	----PANVT	TEVKSVMEMHH
jgi Absrep1 67059 CE67058_1966	-----	-----	----PANVT	TEVKSVMEMHH
jgi Bacci1 227725 estExt_Genew	-----	-----	----PANVT	TEVKSVMEMHH
jgi Blatri1 388912 fgenesht1_kg	-----	-----	----PAAVT	TEVKSVMEMHH
jgi Hesve2finisherSC 1382372 e	-----	-----	----PANVT	TEVKSVMEMHH
gi 661181864 emb CDH55674.1  e	-----	-----	----PANVT	TEVKSVMEMHH
jgi Lichy1 41362 CE41361_17368	-----	-----	-----	-----
gi 758357232 dbj GAN00818.1  h	-----	-----	-----	-----
jgi Mucci2 156959 fgenesht1_kg.	-----	-----	----PAAVT	TEVKSVMEMHH
gi 11078202 gb AAG29017.1 AF15	-----	-----	----PAAVT	TEVKSVMEMHH
jgi Mycafr1 850565 fgenesht1_kg	-----	-----	----PANVT	TEVKSVMEMHH
gi 758366200 emb CEP11307.1  h	-----	-----	----PANVT	TEVKSVMEMHH
jgi Phybl2 171631 fgenesht1_pg.	-----	-----	----PAGVV	TEVKSVMEMHH
jgi Synrac1 452778 estExt_Gene	-----	-----	----PANVT	TEVKSVMEMHH
gi 356668389 gb AET35412.1  e1	-----	-----	----PAAVT	TEVKSVMEMHH
jgi Thaele1 392638 estExt_Gene	-----	-----	----PAAVT	TEVKSVMEMHH
jgi Umbra1 185567 estExt_Genew	-----	-----	-----	--VEKIDRRS
jgi Zyghet1 521330 gm1.1988_g	VIIILNHPGQI	SAGYAPVLDC	HTAHIAKFA	ELIEKIDRRS
gi 210161828 gb ACJ09594.1  tr	-----	-----	----PANVT	TEVKSVMEMHH
Zygmo - 1: 1089 MW: 39701.03	-----	-----	----PAAVT	TEVKSVMEMHH
gi 384493292 gb EIE83783.1  e1	VIIILNHPGQI	GAGYAPVLDC	HTAHIAKFA	ELIEKIDRRS
gi 11078246 gb AAG29039.1 AF15	VIIILNHPGQI	GAGYAPVLDC	HTAHIAKFA	ELIEKIDRRS
gi 729701219 emb CEJ01865.1  P	VIIILNHPGQI	GAGYAPVLDC	HTAHIAKFA	ELIEKIDRRS
gi 11078146 gb AAG28989.1 AF15	-----	-----	----PAAVT	TEVKSVMEMHH
	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....
	370	380	390	400
jgi Morel2 72862 Morel1.e_gwl.	KELDRG-QAG	DNMGALLRGV	K--REQLRG	MVLAQPGT--
gi 1021067544 emb SAL96438.1	EQLVEG-LPG	DNVGFNVKNV	S--VKDIRRG	NVCSDSKNDP
jgi Absrep1 67059 CE67058_1966	EQLVEG-LPG	DNVGFNVKNV	S--VKDIRRG	NVCSDSKNDP
jgi Bacci1 227725 estExt_Genew	ELLPEGGLPG	DNVGFNVKNV	S--VKDIRRG	NVCSDSKNDP
jgi Blatri1 388912 fgenesht1_kg	ETLTEG-LPG	DNVGFNVKNV	S--VKDIRRG	NVCSDSKNDP
jgi Hesve2finisherSC 1382372 e	EQLVEG-VPG	DNVGFNVKNV	S--VKDIRRG	NVCSDSKNDP
gi 661181864 emb CDH55674.1  e	EQLAEG-VPG	DNVGFNVKNV	S--VKDIRRG	NVCSDSKNDP
jgi Lichy1 41362 CE41361_17368	-----	-----	-----	-----
gi 758357232 dbj GAN00818.1  h	-----V	INVSFEDENE	G-----D	AV-DSKADDY
jgi Mucci2 156959 fgenesht1_kg.	ETLTEG-LPG	DNVGFNVKNV	S--VKDIRRG	NVCSDSKNDP
gi 11078202 gb AAG29017.1 AF15	ETLTEG-LPG	DNVGFNVKNV	S--VKDIRRG	NVCSDSKNDP
jgi Mycafr1 850565 fgenesht1_kg	ETLTEG-LPG	DNVGFNVKNV	S--VKDIRRG	NVCSDSKNDP

gi 758366200 emb CEP11307.1  h	ETLPEG-LPG	DNVGFNVKNV	S--VKDIRRG	NVCSDSKNDP
jgi Phybl2 171631 fgenesht_pg.	EQLAEG-LPG	DNVGFNVKNV	S--VKDIRRG	NVCSDSKNDP
jgi Synrac1 452778 estExt_Gene	EQLVEG-VPG	DNVGFNVKNV	S--VKDIRRG	NVCSDSKNDP
gi 356668389 gb AET35412.1  el	ETLSEG-APG	DNVGFNVKNV	S--VKDIRRG	NVCSDSKNDP
jgi Thaele1 392638 estExt_Gene	ETLLEG-LPG	DNVGFNVKNV	S--VKDIRRG	NVCSDSKNDP
jgi Umbra1 185567 estExt_Genew	GK-----KLE	DNPKFVKSGD	SAIVKMVPSK	PMCVEAYTDY
jgi Zyghet1 521330 gm1.1988_g	GK-----KME	DAPKFVKSGD	SAIVKMIPSK	PMCVEAYTDY
gi 210161828 gb ACJ09594.1  tr	EQLAEG-VPG	DNVGFNVKNV	S--VKDIRRG	NVCSDSKNDP
Zygmo - 1: 1089 MW: 39701.03	ETLVEG-LPG	DNVGFNVKNV	S--VKDIRRG	NVCSDSKNDP
gi 384493292 gb EIE83783.1  el	GK-----SLE	ATPKFVKSGD	SAIVKMIPSK	PMCVEAYTDY
gi 11078246 gb AAG29039.1 AF15	GK-----SLE	ATPKFVKSGD	SAIVKMIPSK	PMCVEAYTDY
gi 729701219 emb CEJ01865.1  P	GK-----KLE	DAPKFVKSGD	SAIVKMVPSK	PMCVEAYTDY
gi 11078146 gb AAG28989.1 AF15	ETLLEG-LPG	DNVGFNVKNV	S--VKDIRRG	NVCSDSKNDP
..... .....  ..... .....  .....				
410 420				
jgi Morel2 72862 Morel1.e_gw1.	VKAYK---KF	AASLYILTKD	EGGR	
gi 1021067544 emb SAL96438.1	AKE---AGSF	TAQVIVLNHP	-GQI	
jgi Absrep1 67059 CE67058_1966	AKE---SGSF	TAQVIVLNHP	-GQI	
jgi Baccil1 227725 estExt_Genew	AKE---AGSF	TAQVILNHP	-GQI	
jgi Blatri1 388912 fgenesht_kg	AKE---AGSF	TAQVILNHP	-GQI	
jgi Hesve2finisherSC 1382372 e	AKE---AGSF	TAQVIVLNHP	-GQI	
gi 661181864 emb CDH55674.1  e	AKE---SASF	TAQVIVLNHP	-GQI	
jgi Lichy1 41362 CE41361_17368	-----	-----	----	
gi 758357232 dbj GAN00818.1  h	GA-----ANAV	ESKVIINNHA	-KQE	
jgi Mucci2 156959 fgenesht_kg.	AKE---SASF	TAQVILNHP	-GQI	
gi 11078202 gb AAG29017.1 AF15	AKE---AGSF	LAQVILNHP	-GQI	
jgi Mycafr1 850565 fgenesht_kg	AKE---SGSF	TAQVILNHP	-GQI	
gi 758366200 emb CEP11307.1  h	AKE---AASF	TAQVIVLNHP	-GQI	
jgi Phybl2 171631 fgenesht_pg.	AKE---AGSF	TAQVIVLNHP	-GQI	
jgi Synrac1 452778 estExt_Gene	AKE---SASF	TAQVIVLNHP	-GQI	
gi 356668389 gb AET35412.1  el	AK---EAGSF	TAQVILNHP	-GQI	
jgi Thaele1 392638 estExt_Gene	AKE---AGSF	TAQVILNHP	-GQI	
jgi Umbra1 185567 estExt_Genew	PP----LGRF	AVRDMRQTVA	-VG	
jgi Zyghet1 521330 gm1.1988_g	PP----LGRF	AVRDMRQTVA	-VG	
gi 210161828 gb ACJ09594.1  tr	AKE---SASF	TAQVIVLNHP	-GQI	
Zygmo - 1: 1089 MW: 39701.03	AKE---SASF	LAQVILNHP	-GQI	
gi 384493292 gb EIE83783.1  el	PP----LGRF	AVRDMRQTVA	-VG	
gi 11078246 gb AAG29039.1 AF15	PP----LGRF	AVRDMRQTVA	-VG	
gi 729701219 emb CEJ01865.1  P	PP----LGRF	AVRDMRQTVA	-VG	
gi 11078146 gb AAG28989.1 AF15	AKE---AGSF	TAQVILNHP	-GQI	

Abb. 1: Verwendete Protein-Sequenzen des Elongationsfaktors 1 $\alpha$  verschiedener *Mucorales*. Als Außengruppe wurde *Mortierella elongata* verwendet.

#### Alignment: sexP

	..... .....  ..... .....  ..... .....  ..... .....  .....
	10 20 30 40 50
UV44	-----ATT ACAAGCTTCG CTCCACTCGT
UV48	-----T ACAAGCTTCG CTCCACTCGT
UV112	GTCGTCAGGG AAGAATTCTG CGACTATATT ACAAACTTCG CTCCACTCGT
UV127	GACTACAGGG AAGAATTCTG CGACTATATT ACAAACTTCG CTCCACTCGT
UV139	-TCTTCAGGG AAGAATTCTG CGACTATATT ACAAACTTCG CTCCACTCGT
UV542	-ACGACAGGG AAGAATTCTG CGACTATATT ACAAACTTCG CTCCACTCGT
UV554	GACGTCAGGG AAGAATTCTG CGACTATATT ACAAACTTCG CTCCACTCGT
Z. moelleri Wildtyp	GTCTTCAGGG AAGAATTCTG CGACTATATT ACAAACTTCG CTCCACTCGT
..... .....  ..... .....  ..... .....  ..... .....  .....	
60 70 80 90 100	
UV44	CCAGTCTTTG ATATTCAGAC ATCAGTAAAC CATTTGGGTC CAAAGAGCCA
UV48	CCAGTCTTTG ATATTCAGAC ATCAGTAAAC CATTTGGGTC CAAAGAGCCA
UV112	CCAGTCTTTG ATATTCAGAC ATCAGTAAAC CATTTGGGTC CAAAGAGCCA
UV127	CCAGTCTTTG ATATTCAGAC ATCAGTAAAC CATTTGGGTC CAAAGAGCCA
UV139	CCAGTCTTTG ATATTCAGAC ATCAGTAAAC CATTTGGGTC CAAAGAGCCA
UV542	CCAGTCTTTG ATATTCAGAC ATCAGTAAAC CATTTGGGTC CAAAGAGCCA
UV554	CCAGTCTTTG ATATTCAGAC ATCAGTAAAC CATTTGGGTC CAAAGAGCCA

<b>Z. moelleri Wildtyp</b>	CCAGTCTTTG	ATATTCAGAC	ATCAGTAAAC	CATTTGGGTC	CAAAGAGCCA
	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....
	110	120	130	140	150
<b>UV44</b>	GTGATTGCGT	TGGAGTCGAC	AGTGTGCCAG	AAAGGATGCA	GTGTGTTTCT
<b>UV48</b>	GTGATTGCGT	TGGAGTCGAC	AGTGTGCCAG	AAAGGATGCA	GTGTGTTTCT
<b>UV112</b>	GTGATTGCGT	TGGAGTCGAC	AGTGTGCCAG	AAAGGATGCA	GTGTGTTTCT
<b>UV127</b>	GTGATTGCGT	TGGAGTCGAC	AGTGTGCCAG	AAAGGATGCA	GTGTGTTTCT
<b>UV139</b>	GTGATTGCGT	TGGAGTCGAC	AGTGTGCCAG	AAAGGATGCA	GTGTGTTTCT
<b>UV542</b>	GTGATTGCGT	TGGAGTCGAC	AGTGTGCCAG	AAAGGATGCA	GTGTGTTTCT
<b>UV554</b>	GTGATTGCGT	TGGAGTCGAC	AGTGTGCCAG	AAAGGATGCA	GTGTGTTTCT
<b>Z. moelleri Wildtyp</b>	GTGATTGCGT	TGGAGTCGAC	AGTGTGCCAG	AAAGGATGCA	GTGTGTTTCT
	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....
	160	170	180	190	200
<b>UV44</b>	TGAATCGTCG	TTAGCTCTAA	TACCATTGTC	AACAGCCGCA	ACAGTAGCGT
<b>UV48</b>	TGAATCGTCG	TTAGCTCTAA	TACCATTGTC	AACAGCCGCA	ACAGTAGCGT
<b>UV112</b>	TGAATCGTCG	TTAGCTCTAA	TACCATTGTC	AACAGCCGCA	ACAGTAGCGT
<b>UV127</b>	TGAATCGTCG	TTAGCTCTAA	TACCATTGTC	AACAGCCGCA	ACAGTAGCGT
<b>UV139</b>	TGAATCGTCG	TTAGCTCTAA	TACCATTGTC	AACAGCCGCA	ACAGTAGCGT
<b>UV542</b>	TGAATCGTCG	TTAGCTCTAA	TACCATTGTC	AACAGCCGCA	ACAGTAGCGT
<b>UV554</b>	TGAATCGTCG	TTAGCTCTAA	TACCATTGTC	AACAGCCGCA	ACAGTAGCGT
<b>Z. moelleri Wildtyp</b>	TGAATCGTCG	TTAGCTCTAA	TACCATTGTC	AACAGCCGCA	ACAGTAGCGT
	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....
	210	220	230	240	250
<b>UV44</b>	TTTGTATACA	CCAGTCAAAG	TAGCTCTCCC	AATCGTCACT	TGAAATGGAG
<b>UV48</b>	TTTGTATACA	CCAGTCAAAG	TAGCTCTCCC	AATCGTCACT	TGAAATGGAG
<b>UV112</b>	TTTGTATACA	CCAGTCAAAG	TAGCTCTCCC	AATCGTCACT	TGAAATGGAG
<b>UV127</b>	TTTGTATACA	CCAGTCAAAG	TAGCTCTCCC	AATCGTCACT	TGAAATGGAG
<b>UV139</b>	TTTGTATACA	CCAGTCAAAG	TAGCTCTCCC	AATCGTCACT	TGAAATGGAG
<b>UV542</b>	TTTGTATACA	CCAGTCAAAG	TAGCTCTCCC	AATCGTCACT	TGAAATGGAG
<b>UV554</b>	TTTGTATACA	CCAGTCAAAG	TAGCTCTCCC	AATCGTCACT	TGAAATGGAG
<b>Z. moelleri Wildtyp</b>	TTTGTATACA	CCAGTCAAAG	TAGCTCTCCC	AATCGTCACT	TGAAATGGAG
	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....
	260	270	280	290	300
<b>UV44</b>	TATTGCTCGC	TGTTAGATGC	TGCATTTTCA	ACATTTTCTT	TTTTGATATT
<b>UV48</b>	TATTGCTCGC	TGTTAGATGC	TGCATTTTCA	ACATTTTCTT	TTTTGATATT
<b>UV112</b>	TATTGCTCGC	TGTTAGATGC	TGCATTTTCA	ACATTTTCTT	TTTTGATATT
<b>UV127</b>	TATTGCTCGC	TGTTAGATGC	TGCATTTTCA	ACATTTTCTT	TTTTGATATT
<b>UV139</b>	TATTGCTCGC	TGTTAGATGC	TGCATTTTCA	ACATTTTCTT	TTTTGATATT
<b>UV542</b>	TATTGCTCGC	TGTTAGATGC	TGCATTTTCA	ACATTTTCTT	TTTTGATATT
<b>UV554</b>	TATTGCTCGC	TGTTAGATGC	TGCATTTTCA	ACATTTTCTT	TTTTGATATT
<b>Z. moelleri Wildtyp</b>	TATTGCTCGC	TGTTAGATGC	TGCATTTTCA	ACATTTTCTT	TTTTGATATT
	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....
	310	320	330	340	350
<b>UV44</b>	ATATTCAAAA	TTAGGGTATC	TTTGTTTGTG	TAATATTCTG	CACTCTGAAG
<b>UV48</b>	ATATTCAAAA	TTAGGGTATC	TTTGTTTGTG	TAATATTCTG	CACTCTGAAG
<b>UV112</b>	ATATTCAAAA	TTAGGGTATC	TTTGTTTGTG	TAATATTCTG	CACTCTGAAG
<b>UV127</b>	ATATTCAAAA	TTAGGGTATC	TTTGTTTGTG	TAATATTCTG	CACTCTGAAG
<b>UV139</b>	ATATTCAAAA	TTAGGGTATC	TTTGTTTGTG	TAATATTCTG	CACTCTGAAG
<b>UV542</b>	ATATTCAAAA	TTAGGGTATC	TTTGTTTGTG	TAATATTCTG	CACTCTGAAG
<b>UV554</b>	ATATTCAAAA	TTAGGGTATC	TTTGTTTGTG	TAATATTCTG	CACTCTGAAG
<b>Z. moelleri Wildtyp</b>	ATATTCAAAA	TTAGGGTATC	TTTGTTTGTG	TAATATTCTG	CACTCTGAAG
	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....
	360	370	380	390	400
<b>UV44</b>	CTTGCTTGAT	GTACTTTTCT	TTGACTTCCT	TGTTTGCTGC	TTTCCACATC
<b>UV48</b>	CTTGCTTGAT	GTACTTTTCT	TTGACTTCCT	TGTTTGCTGC	TTTCCACATC

UV112	CTTGCTTGAT	GTACTTTTCT	TTGACTTCCT	TGTTTGCTGC	TTTCCACATC
UV127	CTTGCTTGAT	GTACTTTTCT	TTGACTTCCT	TGTTTGCTGC	TTTCCACATC
UV139	CTTGCTTGAT	GTACTTTTCT	TTGACTTCCT	TGTTTGCTGC	TTTCCACATC
UV542	CTTGCTTGAT	GTACTTTTCT	TTGACTTCCT	TGTTTGCTGC	TTTCCACATC
UV554	CTTGCTTGAT	GTACTTTTCT	TTGACTTCCT	TGTTTGCTGC	TTTCCACATC
Z. moelleri Wildtyp	CTCGCTTGAT	GTACTTTTCT	TTGACTTCCT	TGTTTGCTGC	TTTCCACATC
	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....
	410	420	430	440	450
UV44	GCACCAATAA	ATTTGGATAT	ATCGCTGTTG	TTGAAGGAAG	GAAACAAAGT
UV48	GCACCAATAA	ATTTGGATAT	ATCGCTGTTG	TTGAAGGAAG	GAAACAAAGT
UV112	GCACCAATAA	ATTTGGATAT	ATCGCTGTTG	TTGAAGGAAG	GAAACAAAGT
UV127	GCACCAATAA	ATTTGGATAT	ATCGCTGTTG	TTGAAGGAAG	GAAACAAAGT
UV139	GCACCAATAA	ATTTGGATAT	ATCGCTGTTG	TTGAAGGAAG	GAAACAAAGT
UV542	GCACCAATAA	ATTTGGATAT	ATCGCTGTTG	TTGAAGGAAG	GAAACAAAGT
UV554	GCACCAATAA	ATTTGGATAT	ATCGCTGTTG	TTGAAGGAAG	GAAACAAAGT
Z. moelleri Wildtyp	GCACCAATAA	ATTTGGATAT	ATCGCTGTTG	TTGAAGGAAG	GAAACAAAGT
	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....
	460	470	480	490	500
UV44	TTTGATCTTC	TTTCTCAAAG	CGCTTCTGTA	CAAAATAAAA	GCATTGGTGG
UV48	TTTGATCTTC	TTTCTCAAAG	CGCTTCTGTA	CAAAATAAAA	GCATTGGTGG
UV112	TTTGATCTTC	TTTCTCAAAG	CGCTTCTGTA	CAAAATAAAA	GCATTGGTGG
UV127	TTTGATCTTC	TTTCTCAAAG	CGCTTCTGTA	CAAAATAAAA	GCATTGGTGG
UV139	TTTGATCTTC	TTTCTCAAAG	CGCTTCTGTA	CAAAATAAAA	GCATTGGTGG
UV542	TTTGATCTTC	TTTCTCAAAG	CGCTTCTGTA	CAAAATAAAA	GCATTGGTGG
UV554	TTTGATCTTC	TTTCTCAAAG	CGCTTCTGTA	CAAAATAAAA	GCATTGGTGG
Z. moelleri Wildtyp	TTTGATCTTC	TTTCTCAAGG	CGCTTCTGTA	CAAAATAAAA	GCATTGGTGG
	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....
	510	520	530	540	550
UV44	GACGTTTAGG	TTCACTTGCT	GATGTAGTTG	TGGAGGAGTT	TATATTGTGA
UV48	GACGTTTAGG	TTCACTTGCT	GATGTAGTTG	TGGAGGAGTT	TATATTGTGA
UV112	GACGTTTAGG	TTCACTTGCT	GATGTAGTTG	TGGAGGAGTT	TATATTGTGA
UV127	GACGTTTAGG	TTCACTTGCT	GATGTAGTTG	TGGAGGAGTT	TATATTGTGA
UV139	GACGTTTAGG	TTCACTTGCT	GATGTAGTTG	TGGAGGAGTT	TATATTGTGA
UV542	GACGTTTAGG	TTCACTTGCT	GATGTAGTTG	TGGAGGAGTT	TATATTGTGA
UV554	GACGTTTAGG	TTCACTTGCT	GATGTAGTTG	TGGAGGAGTT	TATATTGTGA
Z. moelleri Wildtyp	GACGTTTAGG	TTCACTTGCT	GATGTAGTTG	TGGAGGAGTT	TATATTGTGA
	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....
	560	570	580	590	600
UV44	TTGCCACCTT	GATTCTGATT	TTCTTGACCC	CATGGATAAT	TTTGAATCGC
UV48	TTGCCACCTT	GATTCTGATT	TTCTTGACCC	CATGGATAAT	TTTGAATCGC
UV112	TTGCCACCTT	GATTCTGATT	TTCTTGACCC	CATGGATAAT	TTTGAATCGC
UV127	TTGCCACCTT	GATTCTGATT	TTCTTGACCC	CATGGATAAT	TTTGAATCGC
UV139	TTGCCACCTT	GATTCTGATT	TTCTTGACCC	CATGGATAAT	TTTGAATCGC
UV542	TTGCCACCTT	GATTCTGATT	TTCTTGACCC	CATGGATAAT	TTTGAATCGC
UV554	TTGCCACCTT	GATTCTGATT	TTCTTGACCC	CATGGATAAT	TTTGAATCGC
Z. moelleri Wildtyp	TTGCCACCTT	GATTCTGATT	TTCTTGACCC	CATGGATAAT	TTTGAATCGC
	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....
	610	620	630	640	650
UV44	AAGTAGAATA	TCCTTTCGGA	GAATGCAATC	GTTGTTTTCC	AATGGTATAC
UV48	AAGTAGAATA	TCCTTTCGGA	GAATGCAATC	GTTGTTTTCC	AATGGTATAC
UV112	AAGTAGAATA	TCCTTTCGGA	GAATGCAATC	GTTGTTTTCC	AATGGTATAC
UV127	AAGTAGAATA	TCCTTTCGGA	GAATGCAATC	GTTGTTTTCC	AATGGTATAC
UV139	AAGTAGAATA	TCCTTTCGGA	GAATGCAATC	GTTGTTTTCC	AATGGTATAC
UV542	AAGTAGAATA	TCCTTTCGGA	GAATGCAATC	GTTGTTTTCC	AATGGTATAC
UV554	AAGTAGAATA	TCCTTTCGGA	GAATGCAATC	GTTGTTTTCC	AATGGTATAC
Z. moelleri Wildtyp	AAGTAGAATA	TCCTTTCGGA	GAATGCAATC	GTTGTTTTCC	AATGGTATAC
	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....
	660	670	680	690	700

UV44	TTTCTTTCTT	TGCTTCAATC	ATCTGGATTA	GGTCTTTTGA	ACTTATAGAT
UV48	TTTCTTTCTT	TGCTTCAATC	ATCTGGATTA	GGTCTTTTGA	ACTTATAGAT
UV112	TTTCTTTCTT	TGCTTCAATC	ATCTGGATTA	GGTCTTTTGA	ACTTATAGAT
UV127	TTTCTTTCTT	TGCTTCAATC	ATCTGGATTA	GGTCTTTTGA	ACTTATAGAT
UV139	TTTCTTTCTT	TGCTTCAATC	ATCTGGATTA	GGTCTTTTGA	ACTTATAGAT
UV542	TTTCTTTCTT	TGCTTCAATC	ATCTGGATTA	GGTCTTTTGA	ACTTATAGAT
UV554	TTTCTTTCTT	TGCTTCAATC	ATCTGGATTA	GGTCTTTTGA	ACTTATAGAT
Z. moelleri Wildtyp	TTTCTTTCTT	TGCTTCAATC	ATCTGGATTA	GGTCTTTTGA	GCTTATAGAT
	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....
	710	720	730	740	750
UV44	ACTCGACTTG	GGTAGATCTT	TATAAAGGTT	TGTCCTTCTT	GCTCGTTGTT
UV48	ACTCGACTTG	GGTAGATCTT	TATAAAGGTT	TGTCCTTCTT	GCTCGTTGTT
UV112	ACTCGACTTG	GGTAGATCTT	TATAAAGGTT	TGTCCTTCTT	GCTCGTTGTT
UV127	ACTCGACTTG	GGTAGATCTT	TATAAAGGTT	TGTCCTTCTT	GCTCGTTGTT
UV139	ACTCGACTTG	GGTAGATCTT	TATAAAGGTT	TGTCCTTCTT	GCTCGTTGTT
UV542	ACTCGACTTG	GGTAGATCTT	TATAAAGGTT	TGTCCTTCTT	GCTCGTTGTT
UV554	ACTCGACTTG	GGTAGATCTT	TATAAAGGTT	TGTCCTTCTT	GCTCGTTGTT
Z. moelleri Wildtyp	ACTCGACTTG	GGTAGATCTT	TATAAAGGTT	TGTCCTTCTT	GCTCGTTGTT
	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	....
	760	770	780	790	
UV44	GAAAGTTATG	TCTTGAATCA	ATATTGCTCG	AGTTGACCTT	GCC---
UV48	GAAAGTTATG	TCTTGAATCA	ATATTGCTCG	AGTTGACCTT	GCCAA
UV112	GAAAGTTATG	TCTTGAATCA	ATATTGCTCG	AGTTGACCTG	TC----
UV127	GAAAGTTATG	TCTTGAATCA	ATATTGCTCG	AGTTGACCTT	GTTC--
UV139	GAAAGTTATG	TCTTGAATCA	ATATTGCTCG	AGTTGAC-TG	T-----
UV542	GAAAGTTATG	TCTTGAATCA	ATATTGCTCG	AGTTGACTGC	CCC---
UV554	GAAAGTTATG	TCTTGAATCA	ATATTGCTCG	AGTTGACTC-	-----
Z. moelleri Wildtyp	GAAAGTTATG	TCTTGAATCA	ATATTGCTCG	AGTTGACCTT	GTCAAT

Abb. 2: Vergleich der *sexP*-Sequenzen der UV-Mutanten und des Wildtyps.

## Alignment: Homoserin-O-Acetyltransferase (Met E)

	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....
	10	20	30	40	
Mucci2 scaffold_01:1972224-197	CGCAGCGTCA	AGTCCTGATG	GCCGATCCCA	ATTGGAACAA	
PARPA_02778.1_scaffold_5272	CACAGCGTCA	GGTCCTGATG	GCTGATCCTA	ACTGGAACAA	
Rhimi_ATCC11559_1_scaffold_3:2	CGCAAAGACA	GGTCTTGATG	GCAGATCCAA	ATTGGAATAA	
Rhior3 supercontig_3.3:944297-	CACAACGTCA	AGTCTTGATG	GCTGATCCTA	ATTGGAACAA	
A. glauca DNA mit Introns	-----	-----	-----	-----	
Consensus	CRCARMGWCA	RGTCYTGATG	GCHGATCCHA	AYTGGAAYAA	
	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	
	50	60	70	80	
Mucci2 scaffold_01:1972224-197	GGGCTTCTAC	TACAAGAGTA	TCCCCCTCA	TGTCGGCATG	
PARPA_02778.1_scaffold_5272	GGGCTTCTAC	TACAAGGGAA	TCCCACCGCA	TGCGGGCATG	
Rhimi_ATCC11559_1_scaffold_3:2	AGGTTTCTAT	TATAAAGGTA	TTCCGCCCCA	TGTTGGTATG	
Rhior3 supercontig_3.3:944297-	GGGCTTTTAT	TATAAAGGGA	TTCCACCCCA	TGTGGGAATG	
A. glauca DNA mit Introns	-----	-----CA	TCCCTCCTCA	CATTGGAATG	
Consensus	RGGYTTYTAY	TAYAARRGNA	TYCCNCCBCA	YRYBGGHATG	
	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	
	90	100	110	120	
Mucci2 scaffold_01:1972224-197	AAG-----	-----	-----	-----	
PARPA_02778.1_scaffold_5272	AAG-----	-----	-----	-----	
Rhimi_ATCC11559_1_scaffold_3:2	AAGGTAAATA	GTATTCCAAG	TTGTATATAT	ATATATATAT	
Rhior3 supercontig_3.3:944297-	AAGGTAA---	-----CCTAG	ACTTATCCCA	CTCAACACG-	
A. glauca DNA mit Introns	AAG-----	-----	-----	-----	
Consensus	AAGGTAAATA	GTATTCCWAG	WYKTATMYMW	MTMWAYAYRT	

	.... ....  .... ....  .... ....  .... ....
	130 140 150 160
Mucci2 scaffold_01:1972224-197	-----C-----TTG CTCGAGAGAT
PARPA_02778.1 scaffold_5272	-----C-----TGG CCCGAGAAAT
Rhimi_ATCC11559_1 scaffold_3:2	GTATGTGAAC TCAATATAAA ACATAGCTCG CACGCGAAAT
Rhior3 supercontig_3.3:944297-	GCTTATTCAC C---TACAGA TCATAGCTGG CAAGAGAGAT
A. glauca DNA mit Introns	-----CTTG CTCGAGAAAT
Consensus	GYWTRTKMAC YCAAYAYARA WCATAGCTBG CHMGMGARAT
	.... ....  .... ....  .... ....  .... ....
	170 180 190 200
Mucci2 scaffold_01:1972224-197	CGCCACGATC AGTTATCGTT CTGGACCTGA ATGGGAGCTT
PARPA_02778.1 scaffold_5272	CGCCACCATC AGCTATCGTT CCGGGCCTGA ATGGGAGCTT
Rhimi_ATCC11559_1 scaffold_3:2	TGCCACTATT AGTTACCGAT CTGGTCCTGA ATGGGAAGCTT
Rhior3 supercontig_3.3:944297-	CGCTACCATC AGTTATCGCT CTGGACCTGA ATGGGAAGCTT
A. glauca DNA mit Introns	TGCGACCATT AGCTACCGAT CCGGTCCTGA ATGGGAAGCTA
Consensus	YGCBACBATY AGYTAYCGHT CYGGDCCTGA ATGGGARCTW
	.... ....  .... ....  .... ....  .... ....
	210 220 230 240
Mucci2 scaffold_01:1972224-197	CGATTTGGCC GCAAGAGAGC AAACGAGCAC CAGTCTCCCG
PARPA_02778.1 scaffold_5272	CGATTCGGAC GCAAAAGAGC AAACGAGCAT CAATCGCCAG
Rhimi_ATCC11559_1 scaffold_3:2	CGCTTTGGTC GTAAAAGAGC GAATGAGCAT CAAACACCAG
Rhior3 supercontig_3.3:944297-	CGATTCCGGTC GCAAGCGTGC CAAAGAAAAC CAATCACCCG
A. glauca DNA mit Introns	CGATTTGGAC GGAAACGAGC TGAAGAAGAT CAATCGCCTG
Consensus	CGMTTYGGHC GBAARMGWGC NRAHGARVAY CARWDCCHG
	.... ....  .... ....  .... ....  .... ....
	250 260 270 280
Mucci2 scaffold_01:1972224-197	CATTGTGCCC TGACTTTTTC ATCGAGACGT ATTTGGACCA
PARPA_02778.1 scaffold_5272	CCCTTTGTCC CGACTTTCTG ATCGAGACGT ATCTGGACCA
Rhimi_ATCC11559_1 scaffold_3:2	CGCTATGTCC TGACTTCTTG ATTGAACTT ATCTTGATCA
Rhior3 supercontig_3.3:944297-	CACCTGTGCC AGACTTCTTG ATCGAGACCT ACCTGGATCA
A. glauca DNA mit Introns	CGCTCTGCCC TGACTTTTTC ATTGAACTT ATTTGGACCA
Consensus	CVYTNTGYCC HGACTTYYTG ATYGARACBT AYYTKGAYCA
	.... ....  .... ....  .... ....  .... ....
	290 300 310 320
Mucci2 scaffold_01:1972224-197	CCAAGGCGAG CGATTCTGTT TGCAATACGA CCCCAACTCG
PARPA_02778.1 scaffold_5272	CCAGGGCGAG AGATTCTGTC TGCAATACGA CCCCAATTCA
Rhimi_ATCC11559_1 scaffold_3:2	TCAAGGAGAA AAATTTTGTT TGCAATATGA CCTTAATTCTG
Rhior3 supercontig_3.3:944297-	TCAAGGCGAG AAATCTGTC TTCAGTACGA TCCCAATTCA
A. glauca DNA mit Introns	TCAAGGGGAA CGCTTTTGTT TACAGTATGA CGCCAAGCTCT
Consensus	YCARGVGAR MRMTTYTGTY TDCARTAYGA YSCYAAAYTCD
	.... ....  .... ....  .... ....  .... ....
	330 340 350 360
Mucci2 scaffold_01:1972224-197	CTCTTGATCA TTTCAAAGGC CATGGATATG TTTGATATGT
PARPA_02778.1 scaffold_5272	TTGCTGTACA TCTCCAAGGC CATGGATATG TTTGACATGT
Rhimi_ATCC11559_1 scaffold_3:2	CTTCTTTATA TCTCAAAGGC CATGGATATC TTTGACATGT
Rhior3 supercontig_3.3:944297-	CTCTTGATCA TTTCAAAGGC GATGGATATC TTTGACATGT
A. glauca DNA mit Introns	CTACTCTACA TCTCCAAGGC GATGGATATG TTTGATATGT
Consensus	YTNYTBTAYA TYTCMAARGC SATGGATATS TTTGAYATGT
	.... ....  .... ....  .... ....  .... ....
	370 380 390 400
Mucci2 scaffold_01:1972224-197	CCCGCTCAGA AATGGAGAAA TTGCAGAGCC AGAGAGAACA
PARPA_02778.1 scaffold_5272	CGCGCTCAGA GACGCAGAAG CTGCAGAGCC AGAGACAGCA
Rhimi_ATCC11559_1 scaffold_3:2	CTCAGTCACA GTTTAAAAAG CTACAAGATC AACGAAGAGA
Rhior3 supercontig_3.3:944297-	CGCGTTCCAG GCTGGAACAC TTGCAGGCC TTCGAGATCA
A. glauca DNA mit Introns	CCTTCTCTTC AACCCAACGA CTACAACAGC AAAGACGCAA
Consensus	CBYDBTCHNV RHYBVARMRV YTRCARVVBC WDMGAVERNVA



	.... ....  .... ....  .... ....  .... ....
	410 420 430 440
Mucci2 scaffold_01:1972224-197	CAATTGCCCC AAGGTAGAGG AGATCTTG-- -AAGCGTCGT
PARPA_02778.1 scaffold_5272	CAATTGCCCC AAAGTGGAGG AGATTCTG-- -AAGCGCCGT
Rhimi_ATCC11559_1 scaffold_3:2	GAATACTCCC AAGTTTGAGC AGGT----- -GCTGC
Rhior3 supercontig_3.3:944297-	AAACACACCC AAACCTCCAAC AG----- -CTGC
A. glauca DNA mit Introns	CAATCAAACC AAGGTGGACA ACATCCTGGC AAAACAACAA
Consensus	VAAYHHDMCC AARBNSAVV ASRTYYTGCC AAARCRHYRH
	.... ....  .... ....  .... ....  .... ....
	450 460 470 480
Mucci2 scaffold_01:1972224-197	CAGCAGCTGG AGCACTCAGA CAAAGAGGAT GCCCGTATCA
PARPA_02778.1 scaffold_5272	CAGCAGCTG- -----TCGAA CGGAGAGGAT GCGCGCATCA
Rhimi_ATCC11559_1 scaffold_3:2	AGAGATCTG- -----G TGGAGGTGAC AGCCGCCAGC
Rhior3 supercontig_3.3:944297-	TCACGTCTG- -----A TAACGAGGAC CATCGTCAGC
A. glauca DNA mit Introns	CAACAACAAC AAGCGAAGCA CGATAAGGTG ACAGATCTTC
Consensus	HVRSRDCWRS ARSMSWMRVR YRRHRKQWB VVNSRYMWB
	.... ....  .... ....  .... ....  .... ....
	490 500 510 520
Mucci2 scaffold_01:1972224-197	TGGCAGAGGC TTGTAGATCT GTGATTGGGA CGCAAT---C
PARPA_02778.1 scaffold_5272	TGGCAGAGGT CTGCCGATCT GTGATAGGAA CGCACT---C
Rhimi_ATCC11559_1 scaffold_3:2	TGGCCGAGGC ATGTCGTTCA GTAGTAGGAA GTGATTACAC
Rhior3 supercontig_3.3:944297-	TGGCTGAGGC CTGTGATCG GCCGTGGG-- -TCACAGTAC
A. glauca DNA mit Introns	GATCGGTAAT TGGGCAATCC TCAGCTTTGG AGCAAA---C
Consensus	KRKCNGWRRY HKGBMRWTCN KYVRYDKRR VKSAHWRYAC
	.... ....  .... ....  .... ....  .... ....
	530 540 550 560
Mucci2 scaffold_01:1972224-197	GGCTTTGGAG GGCAAGGAGG AAGAGGAGGA GCAAGTGTC
PARPA_02778.1 scaffold_5272	TGCCCTGGAG GGCAAAGAGG ACGAGGAAAA TGCGTCAGAA
Rhimi_ATCC11559_1 scaffold_3:2	TGCACTGGAA GGCCAAAAGA GGGAGT---- -
Rhior3 supercontig_3.3:944297-	GGCCCTGGAG GGACAAAAGG CACTGG---- -
A. glauca DNA mit Introns	GAAATTGGAA GATGATCAAG GGCACCAGCA GCAGCAGCAA
Consensus	KRMHYTG GAR GRHVADVARR VVSWSBARVA KSMRBHRBMA
	.... ....  .... ....  .... ....  .... ....
	570 580 590 600
Mucci2 scaffold_01:1972224-197	AAGAAGCCTG C---TGGAAA GAAGAGACTG ACCACATTGT
PARPA_02778.1 scaffold_5272	AACAAGACAG ACAGTGGACA GAAGCGACTG ACTACCCTCT
Rhimi_ATCC11559_1 scaffold_3:2	----- -CGGCAG ATTCCAT--
Rhior3 supercontig_3.3:944297-	----- -TGGCTG ATGTCAAT--
A. glauca DNA mit Introns	CAACAGAGTA GTGGTAAACT TCCTTTGACA AACTTTCTT
Consensus	MAVMAGMSWR VYRGTRRAMW KMMKHKRMHR AYNHYHHYBT
	.... ....  .... ....  .... ....  .... ....
	610 620 630 640
Mucci2 scaffold_01:1972224-197	CCTCTGATCC TGCCACACAA GATTTAGTGG AAGGCATGAA
PARPA_02778.1 scaffold_5272	CTTCAGACCC TGCCACGCAA GATCTGGTGG AAGGCATGAA
Rhimi_ATCC11559_1 scaffold_3:2	--TCCGATCC GATCAGGACA GACCTGGTAG AAGGAATGAA
Rhior3 supercontig_3.3:944297-	--CGGGATCC GGAAACAACC GATCTGATCG AGGGCATGAG
A. glauca DNA mit Introns	CGACGGATCC AGCAACTCAA GACCTGATCG AGGGGATGAA
Consensus	CBHNSGAYCC DRHMASDMMM GAYYTRRTVG ARGGVATGAR
	.... ....  .... ....  .... ....  .... ....
	650 660 670 680
Mucci2 scaffold_01:1972224-197	GGGCATCAAC ATGCCTACCT TGGTGCTGGG TGTCCAATCC
PARPA_02778.1 scaffold_5272	GGGCATCAAT ATGCCTACGC TGGTCTTGGG CGTGCAGTCT
Rhimi_ATCC11559_1 scaffold_3:2	GGACATTCAT ATGCCGGCTT TGGTCTTGGG TGTGCAATCG
Rhior3 supercontig_3.3:944297-	GGACATTCGG ATGCCTGCCT TGGTCTCGG TGTTCAGTCG
A. glauca DNA mit Introns	GAAGATCACA ATGCCAACTT TGGTGCTAGG TATTCAAACG
Consensus	GRRSATYMVN ATGCCDRBY TGGTSYTVGG YRTBCARWCB

	..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... .....
	690 700 710 720
Mucci2 scaffold_01:1972224-197	GACATCTTGT TCCCTGTGTG GCAGCAAAAG GAGATTGCTG
PARPA_02778.1 scaffold_5272	GATATTCTGT TTCCAGTGTG GCAGCAAAAG GAAATAGCCG
Rhimi_ATCC11559_1 scaffold_3:2	GACATTCTAT TCCCCGTATG GCAGCAGAAA GAGATTGCAG
Rhior3 supercontig_3.3:944297-	GATATCCTGT TTCCGTGTTG GCAGCAAAAG GAAATCGCAG
A. glauca DNA mit Introns	GACTTACTAT TCCCTGTATG GCAACAAAAG GAAATCGCTG
Consensus	GAYWTHYTRT TYCCHGTDTG GCARCARAAR GARATHGCHG
	..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... .....
	730 740 750 760
Mucci2 scaffold_01:1972224-197	AATGTCTTCG CGCTTCAGGC AACAAACGAG TTACCTACTA
PARPA_02778.1 scaffold_5272	AGTGTCCTCG TCGGTCAGGC AACAAACAGG TGACCTACTA
Rhimi_ATCC11559_1 scaffold_3:2	AGTGCCCTTCG TGAAGGTGGA AACAAAGCATG TGACTTATTA
Rhior3 supercontig_3.3:944297-	AGTGTCCTTCG TCGGGGTGGA AATAAGCATG TGACGTATTA
A. glauca DNA mit Introns	AATGTCTTCG TGCCTCTGGA AACAAAAAGG TTACCTACTA
Consensus	ARTGYCTKCG YGMNKSWGGM AAYAAVMRDG TKACBTAYTA
	..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... .....
	770 780 790
Mucci2 scaffold_01:1972224-197	CGAACTGGAT GCCATGTTTG GTCATGATAC
PARPA_02778.1 scaffold_5272	TGAGCTGGAT GCTATGTTTG GACACGACAC
Rhimi_ATCC11559_1 scaffold_3:2	TGAATTGGAT GCAATGTATG GTCATGACAC
Rhior3 supercontig_3.3:944297-	TGAATTGGAT GCAATGTTTG GACATGACAC
A. glauca DNA mit Introns	TGAACTGGAT GCCATGTTTG GTCATGACAC
Consensus	YGARYTGGAT GCHATGTWTG GWCAYGAYAC
Alignment: MetE	
	..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... .....
	10 20 30 40 50
WT_MetE	TGACCCCAAC TGGAATAAAG GATTTTATTA TAAAGGAATT CCACCTCATG
UV127_MetE	TGACCCCAAC TGGAATAAAG GATTTTATTA TAAAGGAATT CCACCTCATG
	..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... .....
	60 70 80 90 100
WT_MetE	TCGGTATGAA GGTAAGAAAA TAAGGGGGGA GAGAAAGAAA ATTATGCATT
UV127_MetE	TCGGTATGAA GGTAAGAAAA TAAGGGGGGA GAGAAAGAAA ATTATGCATT
	..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... .....
	110 120 130 140 150
WT_MetE	ATCTATTGTT CCGAAGGACA CCGACATTTT TTT-CTCGAA AAAATGAATT
UV127_MetE	ATCTATTGTT CCGAAGGACA CCGACATTTT TTT-CTCGAA AAAATGAATT
	..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... .....
	160 170 180 190 200
WT_MetE	AGCTTGCTCG TGAAATTGCC ACAATTAGTT ACCGTTCTGG ACCTGAATGG
UV127_MetE	AGCTTGCTCG TGAAATTGCC ACAATTAGTT ACCGTTCTGG ACCTGAATGG
	..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... .....
	210 220 230 240 250
WT_MetE	GAACTTCGTT TCGGTCGCAA AAGATCCAAT GAAAATCAGT CACCAGCATT
UV127_MetE	GAACTTCGTT TCGGTCGCAA AAGATCCAAT GAAAATCAGT CACCAGCATT
	..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... .....
	260 270 280 290 300

<b>WT_MetE</b>	ATGTCCTGAT	TTCTTGATTG	AAACCTATTT	GGATCACCAA	GGTGAAAGAT
<b>UV127_MetE</b>	ATGTCCTGAT	TTCTTGATTG	AAACCTATTT	GGATCACCAA	GGTGAAAGAT
	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....
	310	320	330	340	350
<b>WT_MetE</b>	TCTGTCTTCA	ATATGATCCC	AATTCACTTT	TATACATCTC	CAAGGCTATG
<b>UV127_MetE</b>	TCTGTCTTCA	ATATGATCCC	AATTCACTTT	TATACATCTC	CAAGGCTATG
	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....
	360	370	380	390	400
<b>WT_MetE</b>	GATATGTTTG	ACATGTCAAG	ATCAGAAAAGT	GCCAAATTAT	CAAACCAACG
<b>UV127_MetE</b>	GATATGTTTG	ACATGTCAAG	ATCAGAAAAGT	GCCAAATTAT	CAAACCAACG
	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....
	410	420	430	440	450
<b>WT_MetE</b>	AAAAAACAAC	CTACCAAAGA	TTGAGGAAAT	TTTAAAACAT	CGTCAACAAC
<b>UV127_MetE</b>	AAAAAACAAC	CTACCAAAGA	TTGAGGAAAT	TTTAAAACAT	CGTCAACAAC
	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....
	460	470	480	490	500
<b>WT_MetE</b>	TTGGAGATTC	GGATGAAAAG	GATGATGCTC	AAGTCATGGC	AGAAGCTTGT
<b>UV127_MetE</b>	TTGGAGATTC	GGATGAAAAG	GATGATGCTC	AAGTCATGGC	AGAAGCTTGT
	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....
	510	520	530	540	550
<b>WT_MetE</b>	CGATCTATTA	TGGGAAGTCA	TTCTGCATTA	GAGGGAAAAAG	AAGAACAAAA
<b>UV127_MetE</b>	CGATCTATTA	TGGGAAGTCA	TTCTGCATTA	GAGGGAAAAAG	AAGAACAAAA
	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....
	560	570	580	590	600
<b>WT_MetE</b>	GCAAGTCGCT	GACGCATCTA	ACGCTGATAG	TACAACAACA	AAGAAACCAA
<b>UV127_MetE</b>	GCAAGTCGCT	GACGCATCTA	ACGCTGATAG	TACAACAACA	AAGAAACCAA
	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....
	610	620	630	640	650
<b>WT_MetE</b>	GATTGACTAC	ACTTTCTTCA	GATCCTGCTA	CACAAGATTT	AGTGGAGGGA
<b>UV127_MetE</b>	GATTGACTAC	ACTTTCTTCA	GATCCTGCTA	CACAAGATTT	AGTGGAGGGA
	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....
	660	670	680	690	700
<b>WT_MetE</b>	ATGAAGGGTA	TCAATATGCC	AACTTTGGTA	TTGGGTGTTC	AATCTGATAT
<b>UV127_MetE</b>	ATGAAGGGTA	TCAATATGCC	AACTTTGGTA	TTGGGTGTTC	AATCTGATAT
	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....
	710	720	730	740	750
<b>WT_MetE</b>	TTTATTCCCT	GTATGGCAAC	AAAAGGAAAT	TGCAGAATGT	CTTCGTGCTG
<b>UV127_MetE</b>	TTTATTCCCT	GTATGGCAAC	AAAAGGAAAT	TGCAGAATGT	CTTCGTGCTG
	.... ....	.... ....	.... ....	....	
	760	770	780		
<b>WT_MetE</b>	CTGGAAATAA	CCGTGTCAC	TATTATGAAT	TGGAT	
<b>UV127_MetE</b>	CTGGAAATAA	CCGTGTCAC	TATTATGAAT	TGGAT	

Abb. 3: Verwendete Sequenzen des *MetE* Genes auf Blast Basis von *Aspergillus nidulans* (AN0875.2) zur Erstellung der Primer (grau markiert) und Ergebnis der Sequenzierung der korrespondierenden Amplifikate von *Zygorhynchus moelleri* Wildtyp (WT) und UV127.

### Alignment: Cystathionin Gamma-Synthase (MetA)

	.... .... .... .... .... .... .... ....
	10 20 30 40
M. circinelloides CBS 277.49 D	GACATCATTT CCTCTCGCAT GGCTGAATAC TGCCTGCGCA
Baccil scaffold_24:84696-86851	GACATTATTT CTTCTCGTAT GGCTGAATAT TGTCTTCGTA
L. hyalospora DNA mit Introns	TGTATCTTAT CATCACGCAT GGCAGAGTAT TGCTTGAATA
PARPA_12108.1 scaffold_44939	GATATCATTT CCTCTCGCAT GGCCGAATAT TGTTTGCCTA
P. blakesleeanus DNA mit Intro	GATAATGTTT CCTCTCGAAT GGCCGAGTAT TGCTTTCGTA
Rhimi_ATCC52814_1 scaffold_2:6	GACATCATTT CATCGCGTAT GGCGGAGTAC TGCTTGAGCA
Rhior3 supercontig_3.9:2035824	GACATCATTT GCTCAAGAAT GGCCGAGTAT TGTTTGCCTG
ABSL_09716.1 scaffold_11617	GATATCATCT CCTCTCGACT GGCTGAATAC TGTCTCCGTA
Consensus	KRYAWYDTHT SHTCDMGHMT GGCNGARTAY TGYTBMRYR
	.... .... .... .... .... .... .... ....
	50 60 70 80
M. circinelloides CBS 277.49 D	TCATGGACGA CAATCAGCAA A----- --AGTCTGCC
Baccil scaffold_24:84696-86851	TTTTTGATGA AGA-AAACGA A----- --AAGAAGAA
L. hyalospora DNA mit Introns	TCATGGATGC CAA-CAAATC A----- --GCTACC--
PARPA_12108.1 scaffold_44939	TCATGGACGA CAATCACCAA A----- --AGTCTGTA
P. blakesleeanus DNA mit Intro	TTCTTGATGC AAA-CGATTC T----- --ATTGCTAG
Rhimi_ATCC52814_1 scaffold_2:6	TCTT----- ----GGACGG C----- --AATCAAAA
Rhior3 supercontig_3.9:2035824	TGCTCGATGC AAA-GGATGA G----- --GGTGGAAA
ABSL_09716.1 scaffold_11617	TCTTGATCA AAACGAATCA ACCACTCACT CCACCGTCTC
Consensus	TBHTBGAYSM MRAYVRVHNV NCCACTCACT CCRNBVNNHV
	.... .... .... .... .... .... .... ....
	90 100 110 120
M. circinelloides CBS 277.49 D	GAGGAAGCAG CCGCCAAGAA GGACGACTTG TACAGGCCCA
Baccil scaffold_24:84696-86851	GCAAAATGAA AATGCAGATT C--TGATCTT TATCAACCAA
L. hyalospora DNA mit Introns	--CCCAACAT TGAACCACC- -----A-- -ATGACGCC-
PARPA_12108.1 scaffold_44939	CAGGACATGG CTGCCAGTGA AAAGGACTTG TATAGACCCA
P. blakesleeanus DNA mit Intro	CTCTCAAAAT TCGTCAGCC- -----ATG TATGAACCTA
Rhimi_ATCC52814_1 scaffold_2:6	CACCCCTGAA CCAACAAAG- ----CAAGAG ATCAGGCCCA
Rhior3 supercontig_3.9:2035824	GGAAGGGAGT CCATCAGAC- ----GATCTG TATCGTCCCA
ABSL_09716.1 scaffold_11617	CCCTACTTCT CCAACCACCG TGGAACAACC TATCAAACCA
Consensus	SNVNVVDNVD HNDNCMRNND NRRNVMHNB WWYVRNVCHA
	.... .... .... .... .... .... .... ....
	130 140 150 160
M. circinelloides CBS 277.49 D	AG-GTCACCA TGGGAAGCCG TAGCAGAAGC CATT--ACAG
Baccil scaffold_24:84696-86851	AG-AAGGGTA TGGGCATGAA GAGTCGAAGC AGAA--ACCA
L. hyalospora DNA mit Introns	-----TGGAA AACG----- -----A TCTC--GTTA
PARPA_12108.1 scaffold_44939	AA-GTAACTA TGGGAAGCCG TAGCAGAAGC CATT--ACAG
P. blakesleeanus DNA mit Intro	AA-CGTGGCA ACCGTCGCTA CGTCCGTGCA TCAC--ATCC
Rhimi_ATCC52814_1 scaffold_2:6	AG-CTAACAC TGGGTGGACG CAGTCAGAGC CATT--ACGG
Rhior3 supercontig_3.9:2035824	AA-CTACCA TGGGAGGTG CAGTCGAAGT CACT--ATAG
ABSL_09716.1 scaffold_11617	AGACATGGTG CTGGTCGTTA TGGTCGAAA TCGTCAGTAG
Consensus	ARAVDNRSV HNSGHVKNHR BRKYMRRDVH HVNHCARYNV
	.... .... .... .... .... .... .... ....
	170 180 190 200
M. circinelloides CBS 277.49 D	CAGCAGCAGC AGCCGATCAA TCCCAAAAGT C-----
Baccil scaffold_24:84696-86851	TTACAGCGCT GCCAAATCAA AGCAACCAGC T-----
L. hyalospora DNA mit Introns	TT-CAAAGTC AAA-CAAGAT GCAAAGCAAC A-----
PARPA_12108.1 scaffold_44939	CTCCAG---- ----ATCGA TCCCAAAAGT C-----
P. blakesleeanus DNA mit Intro	TCACAATATC GAAGCACAAT TAAAAAAGA G-----
Rhimi_ATCC52814_1 scaffold_2:6	TAGCAAGCA- ----TGCCAA GCAAAGCAAG C-----
Rhior3 supercontig_3.9:2035824	CTCAAAGCAG CAGATATCAA AATCGGCCAA C-----

ABSGL_09716.1_scaffold_11617	CAACAACAAC	AAATGAACCC	GCCAAGCAAC	CTACTTCACC
Consensus	YHVMARNVNB	VVVNNRHVVH	DVHMRVMMRN	NTACTTCACC
	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....
	210	220	230	240
M. circinelloides CBS 277.49 D	-----	-----	-----GGACA	AGACAAGGAG
Baccil scaffold_24:84696-86851	-----	-----	-----TCTCC	ACCAAAGGAA
L. hyalospora DNA mit Introns	-----	-----	-----ACAAC	A---ACACAG
PARPA_12108.1_scaffold_44939	-----	-----	-----GGGCA	AGAAAAGGAA
P. blakesleeanus DNA mit Intro	-----	-----	-----ACAAA	G---GAAGAA
Rhimi_ATCC52814_1_scaffold_2:6	-----	-----	-----A-TGA	G---GAAGAA
Rhior3 supercontig_3.9:2035824	-----	-----	-----AGTGG	C---GATGAA
ABSGL_09716.1_scaffold_11617	CACGAATACC	ACCGCCATCA	TCAACGACGA	CGAAAAAGAA
Consensus	CACGAATACC	ACCGCCATCA	TCAACDVNVV	VSMRMDSAR
	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....
	250	260	270	280
M. circinelloides CBS 277.49 D	GAGGAGCAG	TCGAGCAAAA	CACCTATTGT	GAAGAACGCT
Baccil scaffold_24:84696-86851	GAAGCTTCTG	TGGAACAAAA	TATTTATCTT	GAAGAGCGTT
L. hyalospora DNA mit Introns	ATGC-TGAGG	AGGATCATGC	AACCTATGTT	GAAGAGCGAT
PARPA_12108.1_scaffold_44939	GAGGAGGCTG	TCGAGCAAAC	TACTTATCTG	GAAGAACGCT
P. blakesleeanus DNA mit Intro	ACATGCGAGG	CAGAACATTC	TGCATATGTT	GAGGAGAGAT
Rhimi_ATCC52814_1_scaffold_2:6	AGTGTGTCAG	GCGAGCAGAC	GACATATCTT	GAAGAACGAT
Rhior3 supercontig_3.9:2035824	AAGGTTGCGG	CCGAGCAAGC	GACTTACCTT	GAAGAACGAT
ABSGL_09716.1_scaffold_11617	CAAGAGGATG	CAGATCAACA	TTTTTACGTG	GAAGAACGGT
Consensus	VNDBNBBMNG	NVGADCADNM	NDYHTAYBTK	GARGARMGNT
	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....
	290	300	310	320
M. circinelloides CBS 277.49 D	ATGGCCGCAA	TCTGCCTGTG	AAATTCGCAA	GCAACGCCAA
Baccil scaffold_24:84696-86851	ATGGTCGTAA	TTTGCCCAT	AAATTACAA	ACAGCGCAAA
L. hyalospora DNA mit Introns	ATGGTCGCAA	TTTACCCATT	GAATTGTGG	ATCATGCCAA
PARPA_12108.1_scaffold_44939	ACGGTCGCAA	TCTGCCTGTC	AAATTCTCGA	ATAACGCCAA
P. blakesleeanus DNA mit Intro	ACGGCCGCAA	CCTGCCTGTC	ATCTATGCCG	ATCGGGCCAA
Rhimi_ATCC52814_1_scaffold_2:6	ATGGCCGAAA	CTTGCCGGTT	CAGTTTGCAA	AAAACGCCAA
Rhior3 supercontig_3.9:2035824	ACGGTAGAAA	CTTGCTGTG	AAGTTTGCAA	ACAAATGCCAA
ABSGL_09716.1_scaffold_11617	ACGGTCGGAA	TCTACCTGTG	GAATTCTCAA	ATCGAGCGAA
Consensus	AYGGYMGNA	YYTRCCBRTB	VWVTWYDYVR	RHMRNGCVAA
	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....
	330	340	350	360
M. circinelloides CBS 277.49 D	AGTCGCTTTG	AGAAGACGCA	TTGCAGGTGT	CTTGAAGG--
Baccil scaffold_24:84696-86851	AATTGCTTTG	AGACGTAGAA	TCGCTGGTGT	TTTAACTTCC
L. hyalospora DNA mit Introns	AGTGGCACTT	CGTCGTCGTA	TTGCTGGTAT	TGCTCTCGGAT
PARPA_12108.1_scaffold_44939	AGTTGCACTG	AGAAGACGTA	TTGCTGGAGT	ATTGCGAG--
P. blakesleeanus DNA mit Intro	ACGTGCCCTT	CGCCGCCGCA	TTGCCGGTGT	TCTCACAGAA
Rhimi_ATCC52814_1_scaffold_2:6	GGTTGCGCTG	AAACGTCGAA	TTGCAGGTAT	CTTAACC---
Rhior3 supercontig_3.9:2035824	GATTGCGTTG	AGACGTAGAA	TTGCAGGTAT	CTTGACT---
ABSGL_09716.1_scaffold_11617	GCGGGCTTTG	AAACGTCGCA	TTGCTGGTGT	CCTGACTGAA
Consensus	RVKBGCNYTK	MRHMGHMGHA	TYGCHGGWRT	HBTVHVNMKH
	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....
	370	380	390	400
M. circinelloides CBS 277.49 D	-----GAGAG	AGCGAGG--T	CAATGACAAG	GAAAACACAA
Baccil scaffold_24:84696-86851	C-----ACAAC	GACAAGG--T	TGAAGCCAGT	GAAGAAAAGA
L. hyalospora DNA mit Introns	A-----AGAAC	ACAAAGG---	--TGCAAGAT	TTCGAAAAGG
PARPA_12108.1_scaffold_44939	-----GGGAA	AGTGAGG--T	CAATGACAAG	GAAAACAAGA
P. blakesleeanus DNA mit Intro	GC---AGAAT	CCGAGAGAT	GATGGAACAA	TTTTACAGAA
Rhimi_ATCC52814_1_scaffold_2:6	-----GAT	GTTTCCG--T	GGACGATCAT	-CTGACAACA
Rhior3 supercontig_3.9:2035824	-----GAT	GTTCCTA--T	TGAAGATCAA	GCAGTCAATA
ABSGL_09716.1_scaffold_11617	GCCGAACAAA	GCAACAACAA	CAGCAACAAC	AGCGGCAACA
Consensus	VCCGARVRAN	VNNNMNRSAR	BRDNVMHVRN	DNHDNMMNMR
	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....
	410	420	430	440

M. circinelloides CBS 277.49 D	CGTCGCGTGC	-----	-----TG	ATTTAGAGGA
Bacill scaffold_24:84696-86851	CAAGCTCAGC	-----	-----TG	ATTTGGAACA
L. hyalospora DNA mit Introns	CAACATCATC	-----	-----AG	AATTGGAGAA
PARPA_12108.1_scaffold_44939	CATCCAGCGC	-----	-----TG	ATCTGGAGGA
P. blakesleeanus DNA mit Intro	CTACAGCTGA	-----	-----AG	ATCTTCAGCA
Rhimi_ATCC52814_1_scaffold_2:6	-----AG	-----	-----TA	ATGTCGAGGA
Rhior3 supercontig_3.9:2035824	GTAGT---AG	-----	-----TA	GCGTGGGAAGA
ABSGL_09716.1_scaffold_11617	CATCCTTGAC	GGCGACGACG	ACTGAACAAG	ACTTGGCACA
Consensus	SDWSNNBNDV	GGCGACGACG	ACTGAACAWR	RHBTNSMRVA

	.... ....  .... ....  .... ....  .... ....
	450          460          470          480
M. circinelloides CBS 277.49 D	GCAGCGTCAA TTGAAGGGTG ATCGCGGCAT CCGAGGCTTG
Bacill scaffold_24:84696-86851	GCAACGTCAA ATGAGAGGTG AACGTAATAT TAAGGGTTTA
L. hyalospora DNA mit Introns	TCAACGTTTA ATCCAAGGTG CTCGTGGCAT GAAAGGTTTA
PARPA_12108.1_scaffold_44939	GCAACGTCAAG TTGAAAGGTG ACCGTGGTAT TAGAGGCTTG
P. blakesleeanus DNA mit Intro	TCAACGTCAA TTGAAAGGTG CTCGTGGTAT TCGTGGTGTA
Rhimi_ATCC52814_1_scaffold_2:6	ACAACGACAG TTGACAGGCG AGCGTGGTAT TCAAGGGTTA
Rhior3 supercontig_3.9:2035824	ACAACGAAAA CTCACAGGCG AGCGTGGCAT CAAAGGCTTA
ABSGL_09716.1_scaffold_11617	ACAACGTCAAG CGAAAAGGCG ATCGTGGTAT TAGTGGTCTC
Consensus	DCARCGWHWR HKVMVRGGYG MNCGYRRYAT BMRDGGBBTV

	.... ....  .... ....  .... ....  .... ....
	490          500          510          520
M. circinelloides CBS 277.49 D	TCTGAGGAGG ATGTGTACCT GTATCCTTGC GGTATGAGTG
Bacill scaffold_24:84696-86851	TCAGAGGAAG ATGTTTATTT ATATCCTTGT GGAATGAGTG
L. hyalospora DNA mit Introns	ACCGAACAAG ATGTCTATCT CTATCCATGT GGTATGAGCG
PARPA_12108.1_scaffold_44939	TCTGAGGAGG ATGTGTATTT GTATCCTTGT GGCATGAGCG
P. blakesleeanus DNA mit Intro	TCAGAGGAAG ATGTGTACTT GTTCCCTTGT GGTATGAGTG
Rhimi_ATCC52814_1_scaffold_2:6	TCAGAGGAGG ATGTGTATCT GTACCCTTGT GGTATGAGTG
Rhior3 supercontig_3.9:2035824	TCTGAAGAAG ATGTTTATCT TTATCCCTGT GGAATGAGTG
ABSGL_09716.1_scaffold_11617	TCCGAAAATG ATGTGTACCT CTTCCCTACC GGCATGAGCG
Consensus	WCHGARVADG ATGTBTAYYT NTWYCCHWSY GGHATGAGYG

M. circinelloides CBS 277.49 D	C
Bacill scaffold_24:84696-86851	C
L. hyalospora DNA mit Introns	C
PARPA_12108.1_scaffold_44939	C
P. blakesleeanus DNA mit Intro	C
Rhimi_ATCC52814_1_scaffold_2:6	C
Rhior3 supercontig_3.9:2035824	C
ABSGL_09716.1_scaffold_11617	C
Consensus	C

Alignment: MetA

	.... ....  .... ....  .... ....  .... ....
	10          20          30          40          50
WT_MetA	----- --CCGAATAT TGCTTAAGAA
UV127_MetA	----- --CCGAATAT TGCTTAAGAA

	.... ....  .... ....  .... ....  .... ....
	60          70          80          90          100
WT_MetA	TTTTGGATGA CAACAAGGAG CAAGCTGATG AAAATGCCGA GAAATCTGAA
UV127_MetA	TTTTGGATGA CAACAAGGAG CAAGCTGATG AAAATGCCGA GAAATCTGAA

	..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... .....
	110 120 130 140 150
<b>WT_MetA</b>	AAGAGCAAAG ATGGTGATTT ATACAAACCT AGACAAACGA TGGGTAGTCG
<b>UV127_MetA</b>	AAGAGCAAAG ATGGTGATTT ATACAAACCT AGACAAACGA TGGGTAGTCG
	..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... .....
	160 170 180 190 200
<b>WT_MetA</b>	TAGTAGAAGC CATTATAGTA GTAAACCAAC CTCTCCTTCC CCAAAGAAAA
<b>UV127_MetA</b>	TAGTAGAAGC CATTATAGTA GTAAACCAAC CTCTCCTTCC CCAAAGAAAA
	..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... .....
	210 220 230 240 250
<b>WT_MetA</b>	CCGATGCCAA GGATGAAGAA GCTGTAGAAC AAACAACCTA CCTTGAAGAA
<b>UV127_MetA</b>	CCGATGCCAA GGATGAAGAA GCTGTAGAAC AAACAACCTA CCTTGAAGAA
	..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... .....
	260 270 280 290 300
<b>WT_MetA</b>	CGTTATGGTC GTAATTTACC CATCAAATTT GCCAATAATG CAAAGATTGC
<b>UV127_MetA</b>	CGTTATGGTC GTAATTTACC CATCAAATTT GCCAATAATG CAAAGATTGC
	..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... .....
	310 320 330 340 350
<b>WT_MetA</b>	TTTGAGACGT AGAATTGCTG GTGTTTTGAC CGGTGAAGAA GAAGATTTGA
<b>UV127_MetA</b>	TTTGAGACGT AGAATTGCTG GTGTTTTGAC CGGTGAAGAA GAAGATTTGA
	..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... .....
	360 370 380 390 400
<b>WT_MetA</b>	CTGATATTGT GAACAAGATT GCCAACATTG GCTTGGATGA ACAACGTCAG
<b>UV127_MetA</b>	CTGATATTGT GAACAAGATT GCCAACATTG GCTTGGATGA ACAACGTCAG
	..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... .....
	410 420 430 440 450
<b>WT_MetA</b>	CAAAAGGGTG ACCGTGGTAT TAAGGGTTTG TCAGAAGAGG ATGTCTATTT
<b>UV127_MetA</b>	CAAAAGGGTG ACCGTGGTAT TAAGGGTTTG TCAGAAGAGG ATGTCTATTT

Abb. 4: Verwendete Sequenzen des *MetA* Genes auf Blast Basis von *Aspergillus nidulans* (AN3456.2) zur Erstellung der Primer (grau markiert) und Ergebnis der Sequenzierung der korrespondierenden Amplifikate von *Zygorhynchus moelleri* Wildtyp (WT) und UV127.

#### Alignment: Adenosylhomocysteinase

	..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... .....
	10 20 30 40
<b>Mucci2 scaffold_01:5205031-520</b>	GAAATGCCCG GTTTGATGGA AATCACC--C GCAAGTATGG
<b>PARPA_12966.1 scaffold_45652</b>	GAAATGCCCG GTTTGATGGA AATCGCC--C GTCAATATGG
<b>Umbra1 scaffold_6:115276-11382</b>	CGCATTGCCG GTTGCTTGCA CATGACCATC GTAAGTGTTT
<b>Rhior3 supercontig_3.5:1150839</b>	GAGATGCCCG GTTTAATGGA AATCGCC--C GCAAGTACGG
<b>Rhimil_1 scaffold_31:75195-736</b>	GAGATGCCCG GTTTGATGGA AATTGCC--C GCAAATACGG
<b>Lichyl scaffold_75:68989-70709</b>	-AAACATGGG CTCTTGTGAG AATGATA-- -TATTCATTA
<b>Hesve2finisherSC scaffold_25:1</b>	CGCATTGCCG GTTGTTTGCA CATGACCATC CAAACTGCTG
<b>Baccil scaffold_106:84622-8277</b>	GAAATGCCTG GTTTGATGGA ACTTGCT--C GCAAGTACGG
<b>Consensus</b>	SRVAYDBSBG STYKNDTGVR MMTBRYHATC SHMWNYRYKD

	.... ....  .... ....  .... ....  .... ....
	50 60 70 80
Mucci2 scaffold_01:5205031-520	TCCCA--CTC AACCCC---- -TCAAGGGTG CCAGAATTGC
PARPA_12966.1_scaffold_45652	TCCTT--CTC AGCCTC---- -TTAAAGGTG CCAGAATTGC
Umbra1 scaffold_6:115276-11382	TTTGTAGGTC AATCATGGTT ATTATAAGAA GGGAAACTGA
Rhior3 supercontig_3.5:1150839	TCCTT--CTC AACCTC---- -TGAAGGGTG CTAGAATTGC
Rhimil_1 scaffold_31:75195-736	TCCTC--TTC AACCTC---- -TTAAGGGTG CCAGAATTGC
Lichyl scaffold_75:68989-70709	TGATG---AT GATTAT---- ---TAGGGTG CTCGTATTGC
Hesve2finisherSC scaffold_25:1	TGTTGATTGA AACCTTGACT GCTCTGGTG CCGAAGTCAC
Baccl1 scaffold_106:84622-8277	TCCCA--CCC AGCCCT---- -TGAAGGGTG CCAGAATTGC
Consensus	TBHBNAKBNH RRYHYHGRYT RYBHWDRGWR SBVRWRYRM
	.... ....  .... ....  .... ....  .... ....
	90 100 110 120
Mucci2 scaffold_01:5205031-520	TGGTTGTTTG CACATGACCA TCCAAACTGC TATCCTCATC
PARPA_12966.1_scaffold_45652	TGGTTGTTTG CATATGACCA TTCAAAGTGC TATCCTCATC
Umbra1 scaffold_6:115276-11382	CTGGCGCGTT TTCACCGTTT AGCAAACCGC TGTCTCATC
Rhior3 supercontig_3.5:1150839	TGGTTGTTTG CACATGACCA TCCAAACGGC TATCCTTATC
Rhimil_1 scaffold_31:75195-736	TGGTTGCTTG CACATGACCA TTCAAAGTGC TGTCTTATC
Lichyl scaffold_75:68989-70709	TGGTTGTCTT CACATGACCA TCCAAAGTGC TGTCTTATT
Hesve2finisherSC scaffold_25:1	CTGGTCTTCC TGCAACATGT A--AGTTTGT TGTTTT---
Baccl1 scaffold_106:84622-8277	TGGTTGTTTG CACATGACCA TCCAGACTGC TATCCTTATC
Consensus	YKGKYSYBYB YDYAHSRYBW WBCARWYBGY TRTYTYTATY
	.... ....  .... ....  .... ....  .... ....
	130 140 150 160
Mucci2 scaffold_01:5205031-520	CGTACCTTGA TTGCTCTCGG TGCTGAGGTT ACCTGGTCTT
PARPA_12966.1_scaffold_45652	CGTACCTTGG TTGCTCTTGG TGCTCAGGTT ACTTGGTCTT
Umbra1 scaffold_6:115276-11382	GAGACCCTTA CTGCTCTCGG TGCTGATGTT ACCTGGTCTT
Rhior3 supercontig_3.5:1150839	CGTACCTTGA TTGCTCTTGG TGCCCAAGTA ACCTGGTCTT
Rhimil_1 scaffold_31:75195-736	CGTACCTTGA TTGCTCTTGG TGCTCAAGTT ACTTGGTCTT
Lichyl scaffold_75:68989-70709	GAAACCTTGA CTGCCCTTGG TGCTCAAGTC ACCTGGTCTT
Hesve2finisherSC scaffold_25:1	--GAATGTGG CAAGCA--GA TGCTCATTGC CATTGGTTTT
Baccl1 scaffold_106:84622-8277	CGTACCTTGA TTGCTCTTGG TGCTGAGGTT ACCTGGTCTT
Consensus	SRDAMYBTKR YWRSYMTYGR TGCYSADKKH MMYTGGTYTT
	.... ....  .... ....  .... ....  .... ....
	170 180 190 200
Mucci2 scaffold_01:5205031-520	CTTGTAACAT CTTCTCCACT CAAGACCACG CCGCCGCTGC
PARPA_12966.1_scaffold_45652	CTTGTAACAT TTTCTCTACT CAAGACCACG CCGCTGCTGC
Umbra1 scaffold_6:115276-11382	CTGCAACAT CTTCTCCACC CAGGATCAGC CCGCTGCTGC
Rhior3 supercontig_3.5:1150839	CCTGTAACAT TTTCTCTACC CAAGACCATG CTGCTGCTGC
Rhimil_1 scaffold_31:75195-736	CTTGTAACAT CTTCTCCACC CAAGACCACG CTGCTGCTGC
Lichyl scaffold_75:68989-70709	CTTGTAACAT TTTCTCCACT CAAGACCATG CTGCTGCTGC
Hesve2finisherSC scaffold_25:1	CTAGC----- -TTCTCTACC CAAGACCATG CTGCTGCTGC
Baccl1 scaffold_106:84622-8277	CCTGTAACAT TTTCTCCACC CAGGATCAGC CCGCTGCCGC
Consensus	CYWGYAACAT YTTCTCYACG CARGAYCAYG CYGCGCYGC
	.... ....  .... ....  .... ....  .... ....
	210 220 230 240
Mucci2 scaffold_01:5205031-520	CATCGCTGCT TCCGGTGTCC CCGTCTATGC CTGGAAGGGT
PARPA_12966.1_scaffold_45652	CATCGCTGCT TCCGGTATTC CCGTCTATGC CTGGAAGGGT
Umbra1 scaffold_6:115276-11382	CATCGCTGCC ACTGGTGTCC CTGTCTACGC CTGGAAGGGT
Rhior3 supercontig_3.5:1150839	GATCGCTGCT TCCGGTGTGC CCGTGTATGC CTGGAAGGGT
Rhimil_1 scaffold_31:75195-736	CATCGCTGCC TCCGGAGTTC CCGTTTATGC TTGGAAGGGT
Lichyl scaffold_75:68989-70709	TATTGCTGCC ACTGGTGTTC CCGTTTATGC CTGGAAGGGT
Hesve2finisherSC scaffold_25:1	TATTGCCGCC ACTGGCGTGC CTGTGTATGC CTGGAAGGGT
Baccl1 scaffold_106:84622-8277	TATTGCTGCC TCCGGTGTCC CTGTCTACGC CTGGAAGGGT
Consensus	BATYGCYGCY WCYGGHRTBC CYGTBTAYGC YTGGAAGGGT
	.... ....  .... ....  .... ....  .... ....
	250 260 270 280
Mucci2 scaffold_01:5205031-520	GAGACTGATG AGGGTAAGTT TATCAC-TGA GCATA-----



PARPA_12966.1_scaffold_45652	GAGACTGATG	AAG-----	-----	-----
Umbra1 scaffold_6:115276-11382	GAGACTGATG	AGG-----	-----	-----
Rhior3 supercontig_3.5:1150839	GAAACCGATG	AAGGTAAA--	-----GGA	TGAAA-----
Rhimil_1 scaffold_31:75195-736	GAAACTGATG	AAGGTAAGCC	TACTG--AGA	CAAGA-----
Lichyl scaffold_75:68989-70709	GAGACTGATG	AGG-----	-----	-----
Hesve2finisherSC scaffold_25:1	GAAACTGACG	AAGGTAAG--	----GAAGGG	CGAGG-----
Baccil scaffold_106:84622-8277	GAAACTGATG	AAGGTAATTT	TTTTGTTAGA	ATAGAGTTGA
Consensus	GARACYGAYG	ARGGTAADYY	TWYYRHW DGR	NNADRGTTGA
	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....
	290	300	310	320
Mucci2 scaffold_01:5205031-520	-----TGTC	-----	-----	-----TGC
PARPA_12966.1_scaffold_45652	-----	-----	-----	-----
Umbra1 scaffold_6:115276-11382	-----	-----	-----	-----
Rhior3 supercontig_3.5:1150839	-----AACA	-----	-----	-----CGT
Rhimil_1 scaffold_31:75195-736	-----AAAA	-----	-----	-----GTGA
Lichyl scaffold_75:68989-70709	-----	-----	-----	-----
Hesve2finisherSC scaffold_25:1	-----CAAC-	-----	-----	-----CGT
Baccil scaffold_106:84622-8277	GCGTGTA AAAA	TATATTTAGT	GGGGTGTTGA	TATTGGGTGG
Consensus	GCGTGYRWMA	TATATTTAGT	GGGGTGTTGA	TATTGGGYGN
	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....
	330	340	350	360
Mucci2 scaffold_01:5205031-520	CCAT----GT	ATCTAATGTG	TACT-----	-----
PARPA_12966.1_scaffold_45652	-----	-----	-----	-----
Umbra1 scaffold_6:115276-11382	-----	-----	-----	-----
Rhior3 supercontig_3.5:1150839	ATGGCAAAGA	AACTGATGAA	-ACA-----	-----
Rhimil_1 scaffold_31:75195-736	GCAT--AACT	AAACAATATA	TATA-----	-----
Lichyl scaffold_75:68989-70709	-----	-----	-----	-----
Hesve2finisherSC scaffold_25:1	GTGGC---GA	AACTCATTTT	TATTTTGTGG	TT-----
Baccil scaffold_106:84622-8277	GCTTTTAATT	ATAAAATATT	CACACTTTT	GTTTCTAAAA
Consensus	VYDKYWAABW	AWMHVATDWD	YAYWYTKTKK	KTTTCTAAAA
	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....
	370	380	390	400
Mucci2 scaffold_01:5205031-520	--AGAATTCA	TCTGGTGTAT	CGAGCAAACC	ATCATGTTCC
PARPA_12966.1_scaffold_45652	----AATTCA	TCTGGTGTAT	TGAGCAAACC	CTCGTGTTC
Umbra1 scaffold_6:115276-11382	----AATTCG	TCTGGTGTAT	CGAGCAAACC	TTGTACTTCC
Rhior3 supercontig_3.5:1150839	AAAGAATTTC	TTTGGTGTAT	TGAACAAACC	CTCTCTTCC
Rhimil_1 scaffold_31:75195-736	---GAATTTG	TCTGGTGTAT	TGAGCAAACC	CTTTCTTCC
Lichyl scaffold_75:68989-70709	----AATTCG	TTTGGTGTAT	TGAGCAAACC	TTGAAGTTCC
Hesve2finisherSC scaffold_25:1	--AGAATTCA	TCTGGTGTAT	CAAGCAAACC	TTGTCTTCC
Baccil scaffold_106:84622-8277	AAAGAATTCA	TCTGGTGTAT	TGAACAAACC	CTCTCTTCC
Consensus	AAAGAATTYR	TYTGGTGTAT	YRARC AAAC	HTBDWSTTCC
	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....
	410	420	430	440
Mucci2 scaffold_01:5205031-520	CCGATGGTCA	ACCTCTCAAC	ATGATTTTGG	ATGATGGTGG
PARPA_12966.1_scaffold_45652	CTGATGGTCA	ACCCCTCAAC	ATGATTTTGG	ATGATGGAGG
Umbra1 scaffold_6:115276-11382	CTGATGGACA	ACCCCTTAAC	ATGATCTCTG	ATGATGGTGG
Rhior3 supercontig_3.5:1150839	CCGATGGTCA	ACCTTTGAAC	ATGATTTTGG	ATGATGGTGG
Rhimil_1 scaffold_31:75195-736	CTGACGGTCA	ACCTTTGAAC	ATGATCTTGG	ATGACGGTGG
Lichyl scaffold_75:68989-70709	CTGATGGTCA	ACCTTTGAAC	ATGATCTTGG	ATGATGGTGG
Hesve2finisherSC scaffold_25:1	CCGATGGTCA	ACCCCTGAAC	ATGATCTTGG	ATGACGGTGG
Baccil scaffold_106:84622-8277	CTGATGGTCA	ACCCCTGAAC	ATGATCTTGG	ATGACGGAGG
Consensus	CYGAYGGWCA	ACCYYTBAAC	ATGATYYTSG	ATGAYGGWGG
	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....
	450	460	470	480
Mucci2 scaffold_01:5205031-520	TGATTTGACC	AACATTGTTC	ACGAAAAGTA	CCCTCACTTG
PARPA_12966.1_scaffold_45652	TGATTTGACT	AACATTGTTC	ACGAAAAGTA	TCCTCAATAT
Umbra1 scaffold_6:115276-11382	TGATCTTACC	AACATTGTCC	ACGAGAAGTA	CCCCCAATTG
Rhior3 supercontig_3.5:1150839	TGATCTGACC	AATATTGTTC	ACCAAAAATA	CCCTCACTTG

Rhimil_1 scaffold_31:75195-736	TGACTTGACC	AACATTGTCC	ACGAAAAGTA	CCCTCACTTG
Lichyl scaffold_75:68989-70709	TGATTTGACC	AACATTGTTC	ACGAAAAGTA	CCCTGAACCTT
Hesve2finisherSC scaffold_25:1	TGACTTGACC	AACATTGTCC	ATGCTGAATA	CCCTGAATTG
Baccil scaffold_106:84622-8277	TGACTTGACC	AACATTGTTC	ACGAAAAGTA	CCCTCAATTG
Consensus	TGAYYTKACY	AAYATTGTYC	AYSMDRARTA	YCCYSAMYWK
	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....
	490	500	510	520
Mucci2 scaffold_01:5205031-520	CTTCCTGGTA	TCAAGGGTCT	CTCTGAGGAA	ACCACCACTG
PARPA_12966.1 scaffold_45652	CTCCCCGGTA	TTAAGGGCCT	TTCCGAGGAA	ACCACCACTG
Umbra1 scaffold_6:115276-11382	CTCGCTGGTA	TCAAGGGTCT	CTCCGAGGAG	ACCACCACTG
Rhior3 supercontig_3.5:1150839	CTTCCCCGCA	TCAAGGGTCT	TTCCGAAGAA	ACCACCACGG
Rhimil_1 scaffold_31:75195-736	ATCCCTGGTA	TCAAGGGTCT	CTCTGAAGAA	ACCACCACTG
Lichyl scaffold_75:68989-70709	CTTCCTGGTA	TCAAGGGTCT	TTCTGAAGAA	ACCACCACTG
Hesve2finisherSC scaffold_25:1	TTGGCTGGTA	TCAAGGGTCT	TTCCGAAGAA	ACCACCACTG
Baccil scaffold_106:84622-8277	CTCCCCGGTA	TCAAGGGTCT	CTCTGAGGAA	ACCACCACCG
Consensus	HTBSCYGGYA	TYAAGGGYCT	YTCBGARGAR	ACCACCACBG
	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....
	530	540	550	560
Mucci2 scaffold_01:5205031-520	GTGTCCACAA	CTTGTACAAG	ATGTTCAAGA	ACGGTGAGCT
PARPA_12966.1 scaffold_45652	GTGTTCACAA	TTTATACAAG	ATGTTCAAGA	ACGGTACACT
Umbra1 scaffold_6:115276-11382	GTGTCCACAA	CCTTTACAAG	ATGATGAAGA	ACGGTACCTT
Rhior3 supercontig_3.5:1150839	GTGTTCACAA	TTTGTACAAG	ATGTTCAAGA	ACGGTGAATT
Rhimil_1 scaffold_31:75195-736	GTGTCCACAA	CTTGTACAAG	ATGTTCAAGA	ACGGTAAGCT
Lichyl scaffold_75:68989-70709	GTGTTCACAA	CTTGTACAAG	ATGATGAAGA	ATGGTACTCT
Hesve2finisherSC scaffold_25:1	GTGTCCACAA	CTTGTACAAG	ATGATGAAGA	ACGGCACCTT
Baccil scaffold_106:84622-8277	GTGTCCACAA	CTTGTACAAG	ATGTTCAAGA	ACGGTGCTCT
Consensus	GTGTYCACAA	YYTDTACAAG	ATGWTSAAAG	AYGGYRMNYT
	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....
	570	580	590	600
Mucci2 scaffold_01:5205031-520	CAAGCTCCCT	GCCATCAACG	TCAACGACTC	TGTCACCAAG
PARPA_12966.1 scaffold_45652	CAAGCTTCCT	GCTATCAATG	TCAACGATTC	CGTCACTAAG
Umbra1 scaffold_6:115276-11382	GAAGCTTCCT	TCCATCAACG	TCAACGACTC	CGTCACCAAG
Rhior3 supercontig_3.5:1150839	GAAACTCCCT	GCTATCAACG	TCAATGATTC	TGTCACCAAG
Rhimil_1 scaffold_31:75195-736	CAAGCTCCCC	GCCATCAACG	TCAATGACTC	CGTTACCAAG
Lichyl scaffold_75:68989-70709	TAAGCTTCCT	TCCATCAACG	TCAATGACTC	TGTTACCAAG
Hesve2finisherSC scaffold_25:1	GAAGTTGCCC	TCCATCAACG	TCAACGACTC	CGTCACCAAG
Baccil scaffold_106:84622-8277	TAAGATCCCC	GCCATCAACA	TCAACGACTC	CGTCACCAAG
Consensus	BAARHTBCCY	KCYATCAAYR	TCAAYGAYTC	YGTYACYAAG
	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....
	610	620	630	640
Mucci2 scaffold_01:5205031-520	TCCAAGTTTCG	ATAACCTCTA	CGGTTGCCGT	GAGTCTCTTG
PARPA_12966.1 scaffold_45652	TCCAAGTTTG	ATAACCTCTA	CGGTTGCCGT	GAATCCCTTG
Umbra1 scaffold_6:115276-11382	TCCAAGTTTCG	ATAACTTGTA	CGGTTGCCGT	GAATCCCTTC
Rhior3 supercontig_3.5:1150839	TCCAAGTTTG	ACAACCTTGTA	CGGTTGTCGT	GAATCCCTTG
Rhimil_1 scaffold_31:75195-736	TCCAAGTTTG	ACAACCTTGTA	CGGTTGCCGT	GAATCCCTTCG
Lichyl scaffold_75:68989-70709	TCCAAGTTTG	ACAACCTTGTA	CGGTTGCCGT	GAATCTCTCG
Hesve2finisherSC scaffold_25:1	TCCAAGTTTCG	ACAACCTTGTA	CGGTTGCCGT	GAATCTTTGC
Baccil scaffold_106:84622-8277	TCCAAGTTTCG	ACAACCTTGTA	CGGTTGCCGT	GAATCCCTTG
Consensus	TCCAAGTTYG	AYAACYTSTA	CGGTTGYCGT	GARTCYTBS
	.... ....	.... ....	.... ....	..
	650	660	670	
Mucci2 scaffold_01:5205031-520	TCGATGGTAT	CAAGCGTGCC	ACCGATGTCA	TG
PARPA_12966.1 scaffold_45652	TCGATGGTAT	CAAGCGTGCT	ACTGATGTCA	TG
Umbra1 scaffold_6:115276-11382	TCGATGGTAT	CAAGCGTGCC	ACCGATGTTA	TG
Rhior3 supercontig_3.5:1150839	TGGATGGTAT	CAAGCGTGCT	ACTGACGTCA	TG
Rhimil_1 scaffold_31:75195-736	TCGACGGCAT	CAAGCGTGCC	ACCGATGTCA	TG
Lichyl scaffold_75:68989-70709	TCGATGGTAT	CAAGCGTGCC	ACTGATGTCA	TG
Hesve2finisherSC scaffold_25:1	TCGATGGTAT	CAAGCGTGCC	ACCGATGTCA	TG
Baccil scaffold_106:84622-8277	TCGATGGTAT	CAAGCGTGCC	ACTGATGTCA	TG
Consensus	TSGAYGGYAT	CAAGCGTGCT	ACYGAYGTYA	TG

Alignment: Ahc

```

      ....|....| ....|....| ....|....| ....|....| ....|....|
      10         20         30         40         50
WT_Ahc  -----  -----  ---GAAATCA CCCGCAAGTA CGGTCCTTCT
UV127_Ahc -----  -----  ---GAAATCA CCCGCAAGTA CGGTCCTTCT

      ....|....| ....|....| ....|....| ....|....| ....|....|
      60         70         80         90        100
WT_Ahc  CAACCTCTTA AGGGTGCCAG AATTGCTGGT TGTTTGCACA TGA CTATCCA
UV127_Ahc CAACCTCTTA AGGGTGCCAG AATTGCTGGT TGTTTGCACA TGA CTATCCA

      ....|....| ....|....| ....|....| ....|....| ....|....|
     110        120        130        140        150
WT_Ahc  AACTGCTATC CTTATCCGTA CCTTGATTGC TCTCGGTGCT CAAGTCACCT
UV127_Ahc AACTGCTATC CTTATCCGTA CCTTGATTGC TCTCGGTGCT CAAGTCACCT

      ....|....| ....|....| ....|....| ....|....| ....|....|
     160        170        180        190        200
WT_Ahc  GGTCTTCTTG TAACATCTTC TCTACCCAAG ATCACGCCGC TGCTGCTATT
UV127_Ahc GGTCTTCTTG TAACATCTTC TCTACCCAAG ATCACGCCGC TGCTGCTATT

      ....|....| ....|....| ....|....| ....|....| ....|....|
     210        220        230        240        250
WT_Ahc  GCTGCTTCCG GTGTCCCCGT CTATGCCTGG AAGGGTGAAA CTGATGAGGG
UV127_Ahc GCTGCTTCCG GTGTCCCCGT CTATGCCTGG AAGGGTGAAA CTGATGAGGG

      ....|....| ....|....| ....|....| ....|....| ....|....|
     260        270        280        290        300
WT_Ahc  TAAGTTTATT TGAATTACGA AGTGATTAGA TAAGAACAAT TTTATTAAAT
UV127_Ahc TAAGTTTATT TGAATTACGA AGTGATTAGA TAAGAACAAT TTTATTAAAT

      ....|....| ....|....| ....|....| ....|....| ....|....|
     310        320        330        340        350
WT_Ahc  TGTTATATAA ACAACAATAG AATTCGTCTG GTGTATTGAA CAAACCATCA
UV127_Ahc TGTTATATAA ACAACAATAG AATTCGTCTG GTGTATTGAA CAAACCATCA

      ....|....| ....|....| ....|....| ....|....| ....|....|
     360        370        380        390        400
WT_Ahc  TGTTCCCTGA TGGTCAACCC CTCAACATGA TTTTGGATGA TGGTGGAGAT
UV127_Ahc TGTTCCCTGA TGGTCAACCC CTCAACATGA TTTTGGATGA TGGTGGAGAT

      ....|....| ....|....| ....|....| ....|....| ....|....|
     410        420        430        440        450
WT_Ahc  TTGACCAACA TTGTTACGTA TAAGTACCCT CACTTACTTC CTGGTATCAA
UV127_Ahc TTGACCAACA TTGTTACGTA TAAGTACCCT CACTTACTTC CTGGTATCAA

      ....|....| ....|....| ....|....| ....|....| ....|....|
     460        470        480        490        500
WT_Ahc  GGGTCTTTCT GAAGAAACTA CCACTGGTGT CCACAACCTG TACAAGATGT
UV127_Ahc GGGTCTTTCT GAAGAAACTA CCACTGGTGT CCACAACCTG TACAAGATGT

```

	.... ....  .... ....  .... ....  .... ....  .... ....
	510 520 530 540 550
<b>WT_Ahc</b>	TCAAGAACGG TGAAGTCCAG CTTCTGCTA TCAACGTCAA CGACTCTGTT
<b>UV127_Ahc</b>	TCAAGAACGG TGAAGTCCAG CTTCTGCTA TCAACGTCAA CGACTCTGTT
	.... ....  .... ....  .... ....  .... ....  .... ....
	560 570 580 590 600
<b>WT_Ahc</b>	ACCACAGTCC AAGTTCGATA ACCTTTACGG TTGTCGTGAA TCTCTTGTGG
<b>UV127_Ahc</b>	ACCACAGTCC AAGTTCGATA ACCTTTACGG TTGTCGTGAA TCTCTTGTGG
	.... ..
<b>WT_Ahc</b>	ATGGTAT
<b>UV127_Ahc</b>	ATGGTAT

Abb. 5: Verwendete Sequenzen des Adenosylhomosysteine (Ahc) Genes auf Blast Basis von *Aspergillus nidulans* (AN1263.2) zur Erstellung der Primer (grau markiert) und Ergebnis der Sequenzierung der korrespondierenden Amplifikate von *Zygorhynchus moelleri* Wildtyp (WT) und UV127.

<b>Alignment: Cystathionin Beta-Synthase (MecA)</b>	
	.... ....  .... ....  .... ....  .... ....
	10 20 30 40
gb KE123942.1 :99503-101154 Mu	ACGACCAGAA GCCATACGAG AGAGAATGTT ACCCATGGTG
PARPA_11169.1_scaffold_42800	CGTATTGCTG CCCGTATGAT TGATGAGGCT GAGAAGGCTG
Umbral scaffold_26:192031-1943	CGTATTGCCA AGCGTATGAT TGAAGAGGCT GAAGCTGCTG
Rhimi ATCC52814_1 scaffold_80:	CGTATTGCTC ATCGCATGGT TGAAGAAGCT GAAAAATCTG
Phybl2 scaffold_12:762178-7600	CGTATTGCTA AGCGTATGAT TGAAGAGGCT GAGAAGTCTG
Lichyl scaffold_62:52428-54423	CGTATTGCCA AGCGCATGAT TGAAGAAGCT GAAGCATCTG
Baccl1 scaffold_126:97712-9947	CGTATCGCTA TCCGTATGAT TGAAGAAGCC GAACGCGATG
ABSG1_05243.1_scaffold_6884	CGTATCGCTG TCCGTATGAT TCAAGAAGCT GAAGATGCCG
Consensus	MSKAYYRSHV NBCRYAYGRK WSADRADGY YRMVVVNKVYG
	.... ....  .... ....  .... ....  .... ....
	50 60 70 80
gb KE123942.1 :99503-101154 Mu	ACAAGACCTC TGAGACGGTG ATGAGGACCA GCAGTAACGG
PARPA_11169.1_scaffold_42800	GAAC TATTAC CC---CTGGC AAGAGTACAA TCATTGAGCC
Umbral scaffold_26:192031-1943	GCA TATCAC TC---CCGGA GTCAGTACCA TCATTGAACC
Rhimi ATCC52814_1 scaffold_80:	GCGTGCTTAT TC---CCGGA GTGAGCACAA TCATTGAACC
Phybl2 scaffold_12:762178-7600	GCTGGATTAC TC---CTGGT GTAAGCACAA TTATCGAGCC
Lichyl scaffold_62:52428-54423	GTTTGATCAA GC---CTGGT GTAAGCACTA TCATTGAGCC
Baccl1 scaffold_126:97712-9947	GTACACTGAT CC---CTGGA AAGAGCACCA TCATTGAGGC
ABSG1_05243.1_scaffold_6884	GTGTCATTAC TC---CTGGT GTAAGCACCA TTATCGAACC
Consensus	RHDNNMYBWH BSAGACBGKN RWVAGBACHA KYAKYRAVSS
	.... ....  .... ....  .... ....  .... ....
	90 100 110 120
gb KE123942.1 :99503-101154 Mu	GCAATTGATC GAAACCGTTC TTTTCC----
PARPA_11169.1_scaffold_42800	TACCTCTGGC AACAC-----
Umbral scaffold_26:192031-1943	TACCTCTGGT AACACTGGTA AGTGCTTTTA CTGTAAGA--
Rhimi ATCC52814_1 scaffold_80:	TACATCTGGT AACAC-----
Phybl2 scaffold_12:762178-7600	CACCTCTGGT AACACTGGTA AGATTTTTTT TTTTACTTTG
Lichyl scaffold_62:52428-54423	TACTTCTGGC AATACCGGTT AGTTTATTTT CATCATCT--
Baccl1 scaffold_126:97712-9947	TACCTCTGGC AATAC-----
ABSG1_05243.1_scaffold_6884	CACCTCTGGC AACAC-----
Consensus	BMMHTYKRKY RAHACYGKTH WKWKYHTTTW YWKYAHBWTG

	.... .... .... .... .... .... .... ....				
	130	140	150	160	
gb KE123942.1 :99503-101154 Mu	-----	-----	-----	-----	
PARPA_11169.1_scaffold_42800	-----	-----	-----	-----	
Umbra1_scaffold_26:192031-1943	-----	-----	-----	--CTTTGACC	
Rhimi_ATCC52814_1_scaffold_80:	-----	-----	-----	-----	
Phybl2_scaffold_12:762178-7600	TGAATTAAGC	AATAGTAAAT	AAGACCAAAT	CCAAGCCTCC	
Lichyl_scaffold_62:52428-54423	-----	-----	-----	-CTATTCTAC	
Baccl1_scaffold_126:97712-9947	-----	-----	-----	-----	
ABSG1_05243.1_scaffold_6884	-----	-----	-----	-----	
Consensus	TGAATTAAGC	AATAGTAAAT	AAGACCAAAT	CCHWKYSWMC	
	.... .... .... .... .... .... .... ....				
	170	180	190	200	
gb KE123942.1 :99503-101154 Mu	-----	-----	-----	-----	
PARPA_11169.1_scaffold_42800	-----	-----	-----	-----	
Umbra1_scaffold_26:192031-1943	AAGATTGTAC	CCAGGTCTGA	CGCGGCATAT	TGCAAATCTT	
Rhimi_ATCC52814_1_scaffold_80:	-----	-----	-----	-----	
Phybl2_scaffold_12:762178-7600	AAAGTGATTG	TGAATACTGA	TTATAACCCT	CTTTTATTTT	
Lichyl_scaffold_62:52428-54423	AAGG-----	---ATACTCA	TACAAGGTTT	TCTTTACTTT	
Baccl1_scaffold_126:97712-9947	-----	-----	-----	-----	
ABSG1_05243.1_scaffold_6884	-----	-----	-----	-----	
Consensus	AARRTKRTWS	YSARKWCTSA	YMDRVVYHT	YBYWWAYYTT	
	.... .... .... .... .... .... .... ....				
	210	220	230	240	
gb KE123942.1 :99503-101154 Mu	-----	-----	--ATGAGATC	AATAGCTTCC	
PARPA_11169.1_scaffold_42800	-----	-----	---TGGTATT	GGCCTGGCTC	
Umbra1_scaffold_26:192031-1943	TGTT-----	-----	---AGGTATC	GGTTTGGCTT	
Rhimi_ATCC52814_1_scaffold_80:	-----	-----	---AGGTATC	GGCTTAGCTC	
Phybl2_scaffold_12:762178-7600	TTACTGAAAT	AATAATACTA	TAAAGGTATC	GGACTTGCTC	
Lichyl_scaffold_62:52428-54423	-----	-----	---AGGTATT	GGTTTGGCAC	
Baccl1_scaffold_126:97712-9947	-----	-----	---TGGTATT	GGTCTTGCTT	
ABSG1_05243.1_scaffold_6884	-----	-----	---AGGTATT	GGTTTGGCTT	
Consensus	TKWYTGAAAT	AATAATACTA	TAAWGRKATY	RRHHKNKYHY	
	.... .... .... .... .... .... .... ....				
	250	260	270	280	
gb KE123942.1 :99503-101154 Mu	TTACAGGTAG	TTTCGCCATC	GATGGTAACA	GCAGCAGCCA	
PARPA_11169.1_scaffold_42800	TTGCTGCTGC	GGTCAAGGGC	TACCGTGTC	TCATCACTCT	
Umbra1_scaffold_26:192031-1943	TGGCTGCAGC	GGTTAAAGGA	TACAGACCA	TTATTACACT	
Rhimi_ATCC52814_1_scaffold_80:	TTGCTGGTGC	TGTCAAGGGC	TACCGTGTC	TCATTACTTT	
Phybl2_scaffold_12:762178-7600	TTGCTGCTGC	TGTCAAGGGT	TACCGTGTTA	TCATTACTTT	
Lichyl_scaffold_62:52428-54423	TTGCTGCTGC	TGTCAAGGGA	TACCGTGTC	TTATCACTTT	
Baccl1_scaffold_126:97712-9947	TGGCGGGCGC	CGTCAAGGGT	TATCGTGTC	TCATTACCTT	
ABSG1_05243.1_scaffold_6884	TGGCTGCTGC	TGTCAAGGGT	TATCGTGTC	TCATCACTTT	
Consensus	TKRCDGSHRS	BKTYRMVRKH	KAYVGRHBA	KYAKYASHYW	
	.... .... .... .... .... .... .... ....				
	290	300	310	320	
gb KE123942.1 :99503-101154 Mu	ACTTCAAGTC	ACGGACAGTG	GCACCAGCAT	AATCTTTCTT	
PARPA_11169.1_scaffold_42800	GCCCCAAAAG	ATGT-CGCAG	GAAAAGGTCG	ATGTTTTGAA	
Umbra1_scaffold_26:192031-1943	TCCCCAAAAA	ATGT-CACAA	GAGAAGGTGG	ATGTTCTCAA	
Rhimi_ATCC52814_1_scaffold_80:	GCCCCAAAAG	ATGT-CACAA	GAAAAGGTTG	ATGTCTTGAA	
Phybl2_scaffold_12:762178-7600	GCCCCGAGAAG	ATGT-CTCAG	GAAAAGGTTG	ACGTGCTCAA	
Lichyl_scaffold_62:52428-54423	GCCAGAAAAG	ATGT-CTCAA	GAAAAGGTGG	ATGTTCTCAA	
Baccl1_scaffold_126:97712-9947	GCCTGAAAAG	ATGT-CACAG	GAAAAGGTGG	ATGTGCTCAA	
ABSG1_05243.1_scaffold_6884	GCCCCAAAAG	ATGT-CTCAA	GAAAAGGTCG	ATGTCTTGAA	
Consensus	DCYHSARRWV	AYGKACDSWR	GMRMMRGYNK	AHKYBYTSWW	
	.... .... .... .... .... .... .... ....				
	330	340	350	360	
gb KE123942.1 :99503-101154 Mu	GGCCTT--GT	TTTCAAAGCT	TTCGCTTTCA	AACTTTT---	
PARPA_11169.1_scaffold_42800	GGCTCTTGGC	GCCGAAATCA	TTCTGACTCC	CACCGAG---	
Umbra1_scaffold_26:192031-1943	AGCGTTGGGA	GCAGAAATCA	TCCGTACCCC	TACCGAA---	

Rhimi_ATCC52814_1_scaffold_80:	GGCTTTGGGC	GCAGAAATCA	TCCGTACACC	TACTGAA---
Phybl2_scaffold_12:762178-7600	GGCCCTGGGT	GCCGAAATTA	TTCGTACTCC	CACTGAAGGT
Lichyl_scaffold_62:52428-54423	GGCTCTGGT	GCTGAGATTA	TTCGTACTCC	CACTGAAGGT
Baccil_scaffold_126:97712-9947	GGCATTTGGT	GCAGAAATCG	TGCGCACCCC	TACAGAG---
ABSGL_05243.1_scaffold_6884	GGCTTTGGGT	GCTGAAATCA	TCCGTACGCC	CACTGAA---
Consensus	RGCNYTKGGH	KYHSARAKYD	TBCGYWYNM	HACHKWDGGT
	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....
	370	380	390	400
gb KE123942.1 :99503-101154 Mu	-----	-----	-----	-----
PARPA_11169.1_scaffold_42800	-----	-----	-----	-----
Umbra1_scaffold_26:192031-1943	-----	-----	-----	-----
Rhimi_ATCC52814_1_scaffold_80:	-----	-----	-----	-----
Phybl2_scaffold_12:762178-7600	AAAACAATAT	AATTTTTTGA	ATTAGTGGTG	GAAGATTTTCG
Lichyl_scaffold_62:52428-54423	AA-----	-----	-----	-----
Baccil_scaffold_126:97712-9947	-----	-----	-----	-----
ABSGL_05243.1_scaffold_6884	-----	-----	-----	-----
Consensus	AAAACAATAT	AATTTTTTGA	ATTAGTGGTG	GAAGATTTTCG
	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....
	410	420	430	440
gb KE123942.1 :99503-101154 Mu	-----	-----	-----	-----
PARPA_11169.1_scaffold_42800	-----	-----	-----	-----
Umbra1_scaffold_26:192031-1943	-----	-----	-----	-----
Rhimi_ATCC52814_1_scaffold_80:	-----	-----	-----	-----
Phybl2_scaffold_12:762178-7600	AATCTCAGAG	TTTTTTTTTT	GCTTGTCTAT	AAAAAAAAAAC
Lichyl_scaffold_62:52428-54423	-----G	TTATTTTATC	ATTGGACTAT	AAAAAAAAAAT
Baccil_scaffold_126:97712-9947	-----	-----	-----	-----
ABSGL_05243.1_scaffold_6884	-----	-----	-----	-----
Consensus	AATCTCAGAG	TTWTTTWTY	RYTKGWCTAT	AAAAAAAAAY
	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....
	450	460	470	480
gb KE123942.1 :99503-101154 Mu	-----	-----	-----	----CATCAG
PARPA_11169.1_scaffold_42800	-----	-----	-----	--GCTGCCTG
Umbra1_scaffold_26:192031-1943	-----	-----	-----	--GCTGCTTG
Rhimi_ATCC52814_1_scaffold_80:	-----	-----	-----	--GCAGCTTG
Phybl2_scaffold_12:762178-7600	AAAGA-CTAA	CTCGTATCGA	TATTTTCTT	TAGCTGCTTG
Lichyl_scaffold_62:52428-54423	AGAGATCTGA	TCCATTCTT	TGGGTATTCA	TAGCTGCTTG
Baccil_scaffold_126:97712-9947	-----	-----	-----	--GCCGCATG
ABSGL_05243.1_scaffold_6884	-----	-----	-----	--GCTGCTTG
Consensus	ARAGATCTRA	YYCRTWTCKW	TRKKTWYYW	TAGCHRYHWG
	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....
	490	500	510	520
gb KE123942.1 :99503-101154 Mu	TGAAGCCGCG	CTCTCTCATC	CAATCGTCGT	TCAAGAACTT
PARPA_11169.1_scaffold_42800	GGATGCTCCC	GAATCCCACA	TTGGCGTCGC	TAAAAAATTG
Umbra1_scaffold_26:192031-1943	GGACGCTCCT	GAGTCACATA	TCGGTGTGTC	AAAGAAATTG
Rhimi_ATCC52814_1_scaffold_80:	GGATGCCCCA	GAATCACACA	TGGTGTGTC	AAAGAAGTTG
Phybl2_scaffold_12:762178-7600	GGATGCTCCC	GAATCTCACA	TTGGCGTTGC	CAAAAAGTTG
Lichyl_scaffold_62:52428-54423	GGATGCTCCC	GAGTCCCATA	TCGGTGTGTC	TCGCAAGCTC
Baccil_scaffold_126:97712-9947	GGATTACCA	GAGTCGCATA	TTGGCGTGGC	GCGCAAGTTG
ABSGL_05243.1_scaffold_6884	GGATGCTCCT	GAAAGTCATA	TCTCTATCGC	CAAAAAGTTG
Consensus	KGAHKCHSCN	SWVWSNCAYM	YHDBYRTBGY	NMRVRARYTB
	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....
	530	540	550	560
gb KE123942.1 :99503-101154 Mu	GGTCATGTAG	TTACGAACAG	AATCAGGCAA	GAT-AACAAC
PARPA_11169.1_scaffold_42800	AGAGATGAAA	TCCCTGATGC	TGTCATCTTG	GATCAATACG
Umbra1_scaffold_26:192031-1943	CGTGATAGCA	TTCCTAACGC	TGTGATTTTG	GATCAATATG
Rhimi_ATCC52814_1_scaffold_80:	AGAGATGAAA	TTCTCATGC	TGTCATTTTG	GATCAATATG
Phybl2_scaffold_12:762178-7600	AGAGATGAGA	TTCTCATGC	TGTCATTTTG	GATCAGTATA
Lichyl_scaffold_62:52428-54423	CGTGATGAAA	TTCTCATGC	TGTTATTCTT	GATCAATATG
Baccil_scaffold_126:97712-9947	CGTGATGAGA	TTCTGGGGC	TGTGATTCTG	GACCAATATG
ABSGL_05243.1_scaffold_6884	CGTGATGAAA	TCCCAATGC	CGTCATTTTG	GATCAATATG

<b>Consensus</b>	VGWSATRDVR TYMCBVRBRS HRTBAKBYWD GAYCARYAHV
	<div> <div>..... ..... ..... ..... ..... ..... </div> <div>570580590600</div> </div>
gb KE123942.1 :99503-101154 Mu	ACAACGTTGG CCTTCCTTGA GCTCCTTGGC AGCTTGAACA
PARPA_11169.1_scaffold_42800	CTAACCCCTA TAACCCTGTT GCTCATTATG ACACC--ACA
Umbra1_scaffold_26:192031-1943	GAAACCCCTTA TAACCCAATT GCTCACTACG ATACT--ACT
Rhimi_ATCC52814_1_scaffold_80:	CCAATCCTTA TAACCCTGTT GCCCATTACG ATACT--ACA
Phybl2_scaffold_12:762178-7600	ACAACCCCTA CAATCCTGTT GCTCACTACG ATACC--ACT
Lichyl_scaffold_62:52428-54423	GCAATCCTTA CAACCCCGTT GCTCACTATG ATACC--ACC
Baccl1_scaffold_126:97712-9947	GAAATCCATA CAACCCCTGTT GCGCATTATG ATGGC--ACT
ABSG1_05243.1_scaffold_6884	GCAACCCCTA CAACCCCAT T GCTCATTACG ATACC--ACA
<b>Consensus</b>	VHAAYS YHKR YMWYCCHDKW GCBMYTRBS ABVBYGAACH
	<div> <div>..... ..... ..... ..... ..... ..... </div> <div>610620630640</div> </div>
gb KE123942.1 :99503-101154 Mu	GCAGCATACA TGGCAGTACC AGAAGAGCCA CCACAAAGGA
PARPA_11169.1_scaffold_42800	GCCGAAGAAA TTTTGCAGCA ATGTGA--TG GTAAGATTGA
Umbra1_scaffold_26:192031-1943	GCTGAAGAAA TCTTGGCCTC TTGTGA--CG GACAAGTTGA
Rhimi_ATCC52814_1_scaffold_80:	GCTGAAGAAC TCTTGAACA ATGTGA--TG GTAAGATTGA
Phybl2_scaffold_12:762178-7600	GCAGAGGAGA TTCTTGATTC TTGCGA--CG GTAAGATTGA
Lichyl_scaffold_62:52428-54423	GCTGAAGAAA TCTTGAAGC ATGTGA--TG GCAAACCTGA
Baccl1_scaffold_126:97712-9947	GCCGAGGAGA TACTGGAACA GTGCGG--AG GTCAAGTGGA
ABSG1_05243.1_scaffold_6884	GCCGAAGAAA TCTTGGCTGC TTGTGA--CG GGAAATTGGA
<b>Consensus</b>	GCHGMRKAVM TNBYDSHNB DMKRHGRGCHR SNMMRNWKGA
	<div> <div>..... ..... ..... ..... ..... ..... </div> <div>650660670680</div> </div>
gb KE123942.1 :99503-101154 Mu	TACCTTCCTC GCGGATCAAA CGACGAGACA TCAAGAAAGA
PARPA_11169.1_scaffold_42800	TATGTTGGTA GCTGGTGCTG GCACTGGTGG T-ACTATTAC
Umbra1_scaffold_26:192031-1943	TATGTTGGTT GCTGGTGCTG GTACAGGAGG T-ACCATCTC
Rhimi_ATCC52814_1_scaffold_80:	CATGTTGGTT GCTGGTGCA G TACTGGTGG T-ACCATCTC
Phybl2_scaffold_12:762178-7600	TATGCTTGTC GCTGGTGCA G TACTGGTGG A-ACTATCAC
Lichyl_scaffold_62:52428-54423	TATGTTGGTC GCTGGTGCA G TACTGGTGG T-ACCATCTC
Baccl1_scaffold_126:97712-9947	CATGGTGGTA GCGGGTGCGG GTACAGGAGG T-ACCATTTC
ABSG1_05243.1_scaffold_6884	TATGCTTGTC GCTGGTGCTG GTACTGGTGG T-ACTATCAC
<b>Consensus</b>	YAYS BTBSTN GCKGR TSMDR SBACDRGWSR WCAMBAWHDM
	<div> <div>..... ..... ..... ..... ..... ..... </div> <div>690700710720</div> </div>
gb KE123942.1 :99503-101154 Mu	AGGCTTGCTC TCAGACTTCA TCCAAACATC AATCAAGTTA
PARPA_11169.1_scaffold_42800	TGGCATTGCT CAAAAGCTCA AGGAGAAATG CCCCACATC
Umbra1_scaffold_26:192031-1943	TGGTATTGCT CGCAAACCTTA AGGAGAAGTG CCCTAACGTC
Rhimi_ATCC52814_1_scaffold_80:	TGGTCTTGCT CAAAAGCTCA AGGAAAAGCT TCCCAACATC
Phybl2_scaffold_12:762178-7600	TGGTATTGCA AAGAAGCTCA AGGAGAGATG CCCCACATC
Lichyl_scaffold_62:52428-54423	TGGTATCGCA AAGAAGATCA AGGAAAATG CCCCATGTC
Baccl1_scaffold_126:97712-9947	GGGCATTGCG CAAAAGCTCA AAGAAAAGTG TCCAAATGTG
ABSG1_05243.1_scaffold_6884	TGGTTTGGCT GCCAAGATCA AGGAAAAGTG CCC-----
<b>Consensus</b>	DGGYHTBKCD NVVRAVHTYA WVSARAVRYB HMYHAABDTV
	<div> <div>..... ..... ..... ..... ..... ..... </div> <div>730740750760</div> </div>
gb KE123942.1 :99503-101154 Mu	CGCTTCAA-- ----- GACATCGGGA
PARPA_11169.1_scaffold_42800	-----
Umbra1_scaffold_26:192031-1943	AAGGTAA-- ----- GATACACAAA
Rhimi_ATCC52814_1_scaffold_80:	-----
Phybl2_scaffold_12:762178-7600	AAGGTAAAGC TTCACTTCCT AAACGAAAAT TACTGGCGGT
Lichyl_scaffold_62:52428-54423	AAGGTA---- ----- TGCATAT AACATATGAT
Baccl1_scaffold_126:97712-9947	-----
ABSG1_05243.1_scaffold_6884	----- TACTTGCA--
<b>Consensus</b>	MRSKTMAAGC TTCACTTCCT AAAYGMAWAT DAYWBVBRRW
	<div> <div>..... ..... ..... ..... ..... ..... </div> <div>770780790800</div> </div>

gb KE123942.1 :99503-101154 Mu	ATGAAATCAT	AACCAATACC	TTCAACTTGA	TAAGAACCAG	
PARPA_11169.1_scaffold_42800	-----	-----	-----	-----	
Umbra1_scaffold_26:192031-1943	ACAACACCTT	TGCTTGCATT	CCAGTTTTCG	TAAATGGCCA	
Rhimi_ATCC52814_1_scaffold_80:	-----	-----	-----	-----	
Phybl2_scaffold_12:762178-7600	GTGCGTATGT	GTGTTTGTCT	CCATAACTGT	ATTAAATGTA	
Lichy1_scaffold_62:52428-54423	ATATAGATCT	-----	---TGCATGT	ATTAAACATTA	
Baccil_scaffold_126:97712-9947	-----	-----	-----	-----	
ABSGL_05243.1_scaffold_6884	-----	-----	-----	-----	
Consensus	RYRHDVHYNT	DDSYWDBWYY	YYMDDHHTGH	WWWRWVNBHR	
..... ..... ..... ..... ..... .....					
	810	820	830	840	
gb KE123942.1 :99503-101154 Mu	CCTCAGTGTT	GAGAGATTTCG	GGTTGAGCCA	AGATGGAACC	
PARPA_11169.1_scaffold_42800	-----	AAAATTGTTG	GTGTCGATCC	TGTCGGTTCC	
Umbra1_scaffold_26:192031-1943	ATTGTTCAAC	AAGATTGTTG	GTGTTGACCC	TCACGGTTCC	
Rhimi_ATCC52814_1_scaffold_80:	-----	AAGATCGTGG	GTGTCGATCC	CGTGGGTTCT	
Phybl2_scaffold_12:762178-7600	AATGGCCATT	TAGATTGTTG	GTGTTGATCC	CATTGGCTCT	
Lichy1_scaffold_62:52428-54423	-----TATC	TAGGTTGTTG	GTGTTGATCC	TCATGGCTCC	
Baccil_scaffold_126:97712-9947	-----	ATCGTTGTGG	GTGTGGATCC	TGTGGGATCG	
ABSGL_05243.1_scaffold_6884	-----	-AGATCGTTG	GTGTTGATCC	TATTGGCTCC	
Consensus	MHTSDBYRWY	DWVRKHKTBG	GKKTBRRYCM	HVWBGGHWCB	
..... ..... ..... ..... ..... .....					
	850	860	870	880	
gb KE123942.1 :99503-101154 Mu	GACTGGATCA	ACACCAACAA	TCTTGATATT	GGGGCACTTT	
PARPA_11169.1_scaffold_42800	ATCTTGGCAC	AGCCTGAATC	CCTCAATACT	GAAAGCGGCT	
Umbra1_scaffold_26:192031-1943	ATCCTTGCTG	TGCCAGAAAG	CTTGAACACT	ACTACAGATT	
Rhimi_ATCC52814_1_scaffold_80:	ATTTTGCTC	AGCCTGAATC	ATTAAATACC	GAAGCAGGTT	
Phybl2_scaffold_12:762178-7600	ATCCTGGCCC	TCCCCGAGTC	TCTCAATGTC	GAGGGTGGTT	
Lichy1_scaffold_62:52428-54423	ATTCTCGCTC	AACCTGAATC	TCTCAACACA	GCTACCGGTG	
Baccil_scaffold_126:97712-9947	ATCCTGGCCC	AGCCTGAATC	GCTCAATGTC	GAGGGTCCTT	
ABSGL_05243.1_scaffold_6884	ATCCTTGCCC	AACCCGAATC	TCTCAACACC	GAAGGTGGTT	
Consensus	RWYYKBRYHV	WVMCHRAVWV	NYTNRAYRYH	RVDRSHSNYK	
..... ..... ..... ..... ..... .....					
	890	900	910	920	
gb KE123942.1 :99503-101154 Mu	TCCTTGAGCT	TTTGAGCGAT	ACCAGTAATG	GTACCAACCAG	
PARPA_11169.1_scaffold_42800	CTTATCAAGT	TGAAGGAATT	GGCTATGACT	TCATCCCCGA	
Umbra1_scaffold_26:192031-1943	CATATCAAGT	TGAAGGTATC	GGCTATGATT	TCATTCCCTGA	
Rhimi_ATCC52814_1_scaffold_80:	CTTATCAAGT	TGAAGGTATC	GGTTATGACT	TTATTCCCCGA	
Phybl2_scaffold_12:762178-7600	CTTACCAAGT	TGAAGGTATC	GGATATGATT	TCATCCCTGA	
Lichy1_scaffold_62:52428-54423	GTTACCAGGT	TGAAGGTATT	GGCTACGATT	TCATTCCCTGA	
Baccil_scaffold_126:97712-9947	CCTATCAGGT	CGAAGGTATT	GGGTATGATT	TTATTCCGGA	
ABSGL_05243.1_scaffold_6884	CTTATCAAGT	CGAAGGTATC	GGGTATGACT	TTATCCCTGA	
Consensus	BHYWYSARST	YKWRRGHRWY	RSNWRYRAYK	KYAYYMCBRR	
..... ..... .....					
	930				
gb KE123942.1 :99503-101154 Mu	TGCC-TGCAC	CAGCA			
PARPA_11169.1_scaffold_42800	TGTCTTGAAG	CGTGA			
Umbra1_scaffold_26:192031-1943	AGCCTTGGAC	CGATC			
Rhimi_ATCC52814_1_scaffold_80:	TGTGCTGAAG	CGTGA			
Phybl2_scaffold_12:762178-7600	TGTCCTGAAG	CGTCC			
Lichy1_scaffold_62:52428-54423	AGTGTTGAAC	CGTGG			
Baccil_scaffold_126:97712-9947	TGCATTGACA	CGGTC			
ABSGL_05243.1_scaffold_6884	TGTCTTGCAA	CGTAG			
Consensus	WGYVYTGVMV	CRDNV			
..... ..... ..... ..... ..... .....					
	10	20	30	40	50
WT_MecA	GTTGATGAAG	CTGAAAAGGC	TGGTGTCATT	ACCCCTGGTG	TCAGTACCAT
UV127_MecA	GTTGATGAAG	CTGAAAAGGC	TGGTGTCATT	ACCCCTGGTG	TCAGTACCAT



	..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... .....
	60 70 80 90 100
<b>WT_MecA</b>	CATTGAACCT ACCTCTGGTA ACACCGGTAT TGGTCTTGCT CTTGCTGCTG
<b>UV127_MecA</b>	CATTGAACCT ACCTCTGGTA ACACCGGTAT TGGTCTTGCT CTTGCTGCTG
	..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... .....
	110 120 130 140 150
<b>WT_MecA</b>	CTGTCAAGGG TTACCGTGTC ATTATCACTT TGCCCGAAAA AATGTCTCAA
<b>UV127_MecA</b>	CTGTCAAGGG TTACCGTGTC ATTATCACTT TGCCCGAAAA AATGTCTCAA
	..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... .....
	160 170 180 190 200
<b>WT_MecA</b>	GAAAAGGTTG GTGTCTTGAA GGCTCTTGGT GCTGAAATTA TTCGTACCCC
<b>UV127_MecA</b>	GAAAAGGTTG GTGTCTTGAA GGCTCTTGGT GCTGAAATTA TTCGTACCCC
	..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... .....
	210 220 230 240 250
<b>WT_MecA</b>	TACTGAAGCT GCTTGGGATG CTCCTGAATC TCACATTGGT GTTGCTCGCA
<b>UV127_MecA</b>	TACTGAAGCT GCTTGGGATG CTCCTGAATC TCACATTGGT GTTGCTCGCA
	..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... .....
	260 270 280 290 300
<b>WT_MecA</b>	AGTTGAGAGA TGAAATTCCT AATGCCGTCA TTTTGATCA ATATACTAAC
<b>UV127_MecA</b>	AGTTGAGAGA TGAAATTCCT AATGCCGTCA TTTTGATCA ATATACTAAC
	..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... .....
	310 320 330 340 350
<b>WT_MecA</b>	CCTTATAACC CTGTTGCTCA CTATGATACC ACTGCCGAGG AAATCTTGGA
<b>UV127_MecA</b>	CCTTATAACC CTGTTGCTCA CTATGATACC ACTGCCGAGG AAATCTTGGA
	..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... .....
	360 370 380 390 400
<b>WT_MecA</b>	ACAATGTGAT GGTAATAATTG ATATGTTGGT TGCTGGTGCT GGTACTGGTG
<b>UV127_MecA</b>	ACAATGTGAT GGTAATAATTG ATATGTTGGT TGCTGGTGCT GGTACTGGTG
	..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... .....
	410 420 430 440 450
<b>WT_MecA</b>	GTACCATTTC TGGTATTGCT CAAAAGCTCA AGGAAAAAGTG TCCCAACATC
<b>UV127_MecA</b>	GTACCATTTC TGGTATTGCT CAAAAGCTCA AGGAAAAAGTG TCCCAACATC
	..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... .....
	460 470 480 490 500
<b>WT_MecA</b>	AAGATTGTCG GTGTTGATCC TATCGGTTCC ATCTTGCTT TGCCTGAATC
<b>UV127_MecA</b>	AAGATTGTCG GTGTTGATCC TATCGGTTCC ATCTTGCTT TGCCTGAATC
	..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... .....
	510 520 530 540 550
<b>WT_MecA</b>	TTTAAATACT GAAGCTGGTT CTTATCAAGT TGAAGGTATT GGTTATGATT
<b>UV127_MecA</b>	TTTAAATACT GAAGCTGGTT CTTATCAAGT TGAAGGTATT GGTTATGATT
	..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... .....
	560 570 580 590 600

<b>WT_MecA</b>	TCATTCCTGA	TGTTCTCAAG	CGTAACTTGG	TTGATGTCTG	GATCAAGTCT
<b>UV127_MecA</b>	TCATTCCTGA	TGTTCTCAAG	CGTAACTTGG	TTGATGTCTG	GATCAAGTCT
	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	....
	610	620	630	640	
<b>WT_MecA</b>	GAAGATAAGC	CTTCTTTCTT	GATGTCTCGT	CGTCTGATTC	GTGGGG
<b>UV127_MecA</b>	GAAGATAAGC	CTTCTTTCTT	GATGTCTCGT	CGTCTGATTC	GTGGGG

Abb. 6: Verwendete Sequenzen des Cystathionin Beta-Synthase (*MecA*) Genes auf Blast Basis von *Aspergillus nidulans* (AN1263.2) zur Erstellung der Primer (grau markiert) und Ergebnis der Sequenzierung der korrespondierenden Amplifikate von *Zygorhynchus moelleri* Wildtyp (WT) und UV127.

<b>Alignment: Cystathionin Gamma-Lyase (MecB)</b>					
	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	
	10	20	30	40	
<b>Mucci2 scaffold_08:2134449-213</b>	GTGACAACA	CCTTCATGTC	TCCCTACTTC	CAAAACCCCA	
<b>Phybl2 scaffold_3:2237988-2239</b>	GTGACAACA	CTTTCATGAG	CCCTTACTTC	CAGAACCCCA	
<b>PARPA_13251.1 scaffold_46269</b>	GTGGACAACA	CCTTTATGTC	TCCTTATTTT	CAAAACCCCA	
<b>Rhimi_ATCC52814_1 scaffold_99:</b>	GTGACAATA	CCTTCATGTC	TCCTTACTTC	CAAAACCCCA	
<b>Rhior3 supercontig_3.2:3199283</b>	GTGACAATA	CCTTCATGTC	CCCTTATTTT	CAAAACCCCA	
<b>Hesve2finisherSC scaffold_39:1</b>	GTGGACAACA	CCTTCATGAG	CCCTTATTTT	CAAAACCCCT	
<b>Baccl1 scaffold_223:14901-1621</b>	GTTGACAACA	CCTTCATGTC	TCCTTACTTC	CAGAACCCCTA	
<b>ABSG1_04778.1 scaffold_5911</b>	GTTGACAACA	CCTTCATGTC	TCCTTACTTC	CAAAACCCCTC	
<b>Consensus</b>	GTBGAYAAAY	CYTTYATGWS	YCCYTAYTTC	CARAACCCYH	
	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	
	50	60	70	80	
<b>Mucci2 scaffold_08:2134449-213</b>	TTGCCTTGGG	TGCTGATATC	GTCAATTCAT	CTGTCACCAA	
<b>Phybl2 scaffold_3:2237988-2239</b>	TTTCCCTTGG	TGCCGATGTC	GTGTTCACT	CTGTGACCAA	
<b>PARPA_13251.1 scaffold_46269</b>	TCGCCTGGGG	TGCAGATATT	GTCAATCCAT	CTGTGACAAA	
<b>Rhimi_ATCC52814_1 scaffold_99:</b>	TCAACTTGGG	TGCTGATATC	GTGTTCACT	CCGTTACCAA	
<b>Rhior3 supercontig_3.2:3199283</b>	TCAGCCTTGG	TGCTGACATC	GTGTTCACT	CCGTTACTAA	
<b>Hesve2finisherSC scaffold_39:1</b>	TGGCTCTCGG	TGCTGACGTG	GTTGTGCACT	CAGTCACCAA	
<b>Baccl1 scaffold_223:14901-1621</b>	TCGCTTTGGG	TGCTGACATT	GTGTTCACT	CTGTTACCAA	
<b>ABSG1_04778.1 scaffold_5911</b>	TTGCTCTCGG	TGCGGACATT	GTTGTGCACT	CCGTCACCAA	
<b>Consensus</b>	TBDVYKYBGG	TGCNGAYRTB	GTYRTBCACT	CNGTBACHAA	
	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	
	90	100	110	120	
<b>Mucci2 scaffold_08:2134449-213</b>	GTACATCAAC	GGCCACTCTG	ATGTCGTGAT	GGGTGTTGCC	
<b>Phybl2 scaffold_3:2237988-2239</b>	GTACATCAAC	GGTCACTCTG	ACGTTGTGAT	GGGTGTTGCT	
<b>PARPA_13251.1 scaffold_46269</b>	GTACATTAAT	GGCCACTCTG	ATGTGGTGAT	GGGTGTTGCT	
<b>Rhimi_ATCC52814_1 scaffold_99:</b>	GTATATCAAC	GGTCACTCTG	ACGTCGTCAT	GGGTGTCGCT	
<b>Rhior3 supercontig_3.2:3199283</b>	ATACATCAAC	GGCCACTCTG	ATGTCGTGAT	GGGTGTTGCT	
<b>Hesve2finisherSC scaffold_39:1</b>	ATATATCAAC	GGTCACTCGG	ATGTCGTGAT	GGGTGTGGCT	
<b>Baccl1 scaffold_223:14901-1621</b>	ATACATCAAT	GGTCACTCTG	ATGTCGTGAT	GGGTATTGCC	
<b>ABSG1_04778.1 scaffold_5911</b>	GTACATCAAC	GGTCACTCCG	ACGTTGTGAT	GGGCATTGCC	
<b>Consensus</b>	RTAYATYAAY	GGYCACTCBG	AYGTBGT SAT	GGGYRTBG CY	
	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....	
	130	140	150	160	
<b>Mucci2 scaffold_08:2134449-213</b>	GTTACCTCCA	ACGAGGAATG	GTACAAGAAG	CTCGCTTTCA	
<b>Phybl2 scaffold_3:2237988-2239</b>	GTCACCAGCG	ACGAGACTCT	TTACGAGAAG	ATCCAGTTCA	
<b>PARPA_13251.1 scaffold_46269</b>	GTTACGTCGG	ATGAGGAATG	GTACAAGAAG	CTTCAGTTCA	
<b>Rhimi_ATCC52814_1 scaffold_99:</b>	GTCATGAACG	ACGAAGAAAC	TTATGAACAA	CTCAAGTTTA	
<b>Rhior3 supercontig_3.2:3199283</b>	GTCTTGAATG	ATGAGCAAGT	GTACGATAAG	CTCAAGTTTA	
<b>Hesve2finisherSC scaffold_39:1</b>	GTGACCAACA	ACAAGGAAGT	CTATGAACAA	TTGCAATTCT	

Baccil scaffold_223:14901-1621	GTCACCAACA	GCGAAGAATG	GCTCGAAAAGA	CTCAAGTTTT
ABSGL_04778.1_scaffold_5911	GTCACCAACG	ACCAAGCCGT	GTATGAAAAG	CTCCAATTCA
Consensus	GTBWYSWVYR	RYVARVMHNB	BYWYRADMR	HTBVMDDTYW
	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....
	170	180	190	200
Mucci2 scaffold_08:2134449-213	TGCAAAACTC	TCTTGGTGCT	GTCCCTCTG	CTTTCGACTG
Phybl2 scaffold_3:2237988-2239	TGCAAAACTC	CATGGGCGCC	GTTCCCTCTG	CCTTTGACTG
PARPA_13251.1_scaffold_46269	TGCAAAACTC	TCTAGGGGCT	GTGCCCTCTG	CGTTCGACTG
Rhimi_ATCC52814_1_scaffold_99:	TGCAAAACTC	TCTTGGCGCT	GTCCCTGCTC	CCTTTGACTG
Rhior3 supercontig_3.2:3199283	TGCAAAACTC	ACTGGGTGCT	GTCCCTTCTG	CCTTTGACTG
Hesve2finisherSC scaffold_39:1	TGCAAAACTC	CATTGGTGCC	GTGCCCTCGG	CCTTTGACTC
Baccil scaffold_223:14901-1621	TGCAAAACTC	GTTGGGTGCT	GTCCCTTCTG	CATTTGATTG
ABSGL_04778.1_scaffold_5911	TGCAAAACTC	CATGGGTGCT	GTGCCTTCTG	CCTTTGATTG
Consensus	TGCAAAACTC	NHTDGGBCY	GTBCCYKCKS	CNTTYGAYTS
	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....
	210	220	230	240
Mucci2 scaffold_08:2134449-213	TTTCATGGCT	CGCCGTGGTC	TGATGACCCT	TGAGGTTTCGT
Phybl2 scaffold_3:2237988-2239	CTACCTTGCC	CGCCGTGGCT	TGATGACCCT	CGAGATCCGT
PARPA_13251.1_scaffold_46269	TTTCATGGCT	CGCCGTGGTC	TCATGACCCT	TGAGGTTTCGT
Rhimi_ATCC52814_1_scaffold_99:	TTTCTTGGCT	CGCCGTGGCT	TGATGACCTT	GGAAGTACGT
Rhior3 supercontig_3.2:3199283	TTTCTTGGCT	CGTCGTGGCT	TGATGACCTT	GGAAGTGCGC
Hesve2finisherSC scaffold_39:1	TTACTTGGCT	CGCCGTGGTC	TCATGACCTT	GGAAGTCCGT
Baccil scaffold_223:14901-1621	TTATTGGCT	CGCCGTGGTT	TGATGACATT	AGAGGTACGT
ABSGL_04778.1_scaffold_5911	TTTCCTTGCC	CGCCGTGGTT	TGATGACCTT	GGAAGTGCGC
Consensus	YTWYHTKGCY	CGYCGTGGYY	TSATGACMYT	NGARRTNCGY
	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....
	250	260	270	280
Mucci2 scaffold_08:2134449-213	ATGCAAAGAC	ATGCTGAGAA	CGCCCAAGCC	GTTGCAGAGT
Phybl2 scaffold_3:2237988-2239	ATGCAGCGCC	ACGAGCAGAA	CGCCAAGACC	ATTGCCGCCT
PARPA_13251.1_scaffold_46269	ATGCAAAGAC	ATGCTGAAAA	TGCCCAAGCT	GTCGCAGAGT
Rhimi_ATCC52814_1_scaffold_99:	ATGCACGCC	ACGCCGAAAA	CGCTCAGGCC	GTCGCCGAGT
Rhior3 supercontig_3.2:3199283	ATGCAGAGAC	ATGCAGAGAA	CGCACAAAGCT	GTTGCTGAAT
Hesve2finisherSC scaffold_39:1	ATGCAGCGTC	ACGCTGAAAA	CGCCATGCAA	GTTGCCAAGT
Baccil scaffold_223:14901-1621	ATGCAACGCC	ATGCTGAAAA	TGCTCAGGCT	GTTGCCGAGT
ABSGL_04778.1_scaffold_5911	ATGCACGCC	ACGCCGCCAA	CGCCCAAGCC	CTGGCCGAAT
Consensus	ATGCARMGHC	AYGMNSMVAA	YGCHMWRVMH	VTBGCHRMVT
	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....
	290	300	310	320
Mucci2 scaffold_08:2134449-213	ATTTGGAAAC	CAACGAACAC	ATTGAAGAAG	TCATCTATCC
Phybl2 scaffold_3:2237988-2239	ACCTCGAGAA	GAACGAGCAC	ATCGAGGCCG	TCATCTATCC
PARPA_13251.1_scaffold_46269	ATTTGCAAAG	CAACGAGCAC	ATTGAAGAGG	TTATTTATCC
Rhimi_ATCC52814_1_scaffold_99:	ATCTTGAAAC	AAATCAATAT	GTTGATGAAG	TCATCTATCC
Rhior3 supercontig_3.2:3199283	ATTTGCAAAC	CAACAAACAT	GTGGACGAAG	TCATCTATCC
Hesve2finisherSC scaffold_39:1	TTTTGGAAAC	TCACCCTCAA	GTTGAAGAAG	TCATTTATCC
Baccil scaffold_223:14901-1621	ATTTGGAAAC	AAATGAGCAT	GTGAGGAAG	TGATCTATCC
ABSGL_04778.1_scaffold_5911	ACCTCGAAAC	CAACGACCAC	ATCGAAGAGG	TCATCTATCC
Consensus	WYYTBSARAV	NMAYVMNYAH	RTBGANGMVG	TBATYTAYCC
	.... ....	.... ....	.... ....	.... ....
	330	340	350	360
Mucci2 scaffold_08:2134449-213	TGGCCTCCCC	TCTCATCCCA	ACCACGAACT	GGCCAAGAAG
Phybl2 scaffold_3:2237988-2239	CGGTCTTGCC	TCCCACCCCC	AGCACGAGTT	GGCCAAGCGC
PARPA_13251.1_scaffold_46269	CGGCCTTCCG	TCTCATCCTA	ACCATGAGTT	GGCCAAGAAG
Rhimi_ATCC52814_1_scaffold_99:	CGGTCTTCCT	TCTACCCCA	ACCATGAATT	GGCCAAGAGA
Rhior3 supercontig_3.2:3199283	CGGTCTTGCT	TCTCATCCTA	ACCATGAATT	GGCCAAGAGA
Hesve2finisherSC scaffold_39:1	CGGTCTGCCC	TCGCACCCCA	ACCACGAACT	GGCCAAGCGT
Baccil scaffold_223:14901-1621	TGGTCTTCCC	TCCCACCCCA	ACCACGAGTT	GGCCAAGCGT
ABSGL_04778.1_scaffold_5911	TGGTCTGCCT	TCTACCCCA	ACCATGAACT	GGCCAAGCAA
Consensus	YGGYCTBSCB	TCBCAYCCYM	ASCAYGARYT	SGCCAAGMRN

	.... ....  .... ....  .... ....  .... ....
	370 380 390 400
Mucci2 scaffold_08:2134449-213	CAACAAAGCG GCTTTGGTGG TATGATCTCC TTCCGCGTTA
Phybl2 scaffold_3:2237988-2239	CAGCAAAAGG GTTTCGGTGG CATGGTGTCT TTCCGCACCA
PARPA_13251.1 scaffold_46269	CAGCAGAGCG GCTTTGGAGG TATGATTTCT TTCCGTGTGA
Rhimi_ATCC52814_1 scaffold_99:	CAACAACGTG GCTTTGGTGG CATGATCTCC TTCCGTATGA
Rhior3 supercontig_3.2:3199283	CAACAAAAGG GCTTTGGTGG TATGATCTCA TTCCGTATGA
Hesve2finisherSC scaffold_39:1	CAACAACACG GTTTCGGTGG TATGGTCTCC TTCCGTCTCC
Baccl1 scaffold_223:14901-1621	CAGCAATCTG GCTTTGGTGG TATGATCTCA TTCCGTGTGA
ABSGL_04778.1 scaffold_5911	CAACAACGTG GCTTTGGTGG CATGATCTCC TTCCGTGTCA
Consensus	CARCARHVBG GYTTYGGWGG YATGRBTBCH TTCCGYVYBM
	.... ....  .... ....  .... ....  .... ....
	410 420 430 440
Mucci2 scaffold_08:2134449-213	AAGGTAATTT GGACAATGTC AACAAGTTGT TGAGCAACTT
Phybl2 scaffold_3:2237988-2239	AGGGCACCTT CGATAACGTC AACAAGATGC TCGGTCACCT
PARPA_13251.1 scaffold_46269	AAGGTAATTT GGATAATGTC AACAAGCTGT TGAGCAATCT
Rhimi_ATCC52814_1 scaffold_99:	AGGGCTCCCT TGACAACGTC AACAAGTTCC TCCAAAACCT
Rhior3 supercontig_3.2:3199283	AGGGTGACTT GAATAACGTC AATGGATTCT TATCCAACCT
Hesve2finisherSC scaffold_39:1	GCGGTACCTT GGATAACGTC AATGTGTTCC TTGGTCAATT
Baccl1 scaffold_223:14901-1621	AGGGTGATAT TAGCAACGTC AACAAGATCC TTAGCAACTT
ABSGL_04778.1 scaffold_5911	AGGGCAACCT CGACAACGTC AACAAGTTCT TGGGCAACTT
Consensus	RVGGYDMYHT BRRYAAYGTC AAYRDRHTSY TNNVHMAHYT
	.... ....  .... ....  .... ....  .... ....
	450 460 470 480
Mucci2 scaffold_08:2134449-213	GGAACACATT ACTTTGGCCG AGTCCTTGGG TGGTGT----
Phybl2 scaffold_3:2237988-2239	CCAGTACATC ACCCTTGCCG AGTCTCTTGG TGGTGT----
PARPA_13251.1 scaffold_46269	TCAACACATT ACGTTGGCCG AGTCTTTGGG TGGTGT----
Rhimi_ATCC52814_1 scaffold_99:	TCACCACATC ACTCTTGCTG AATCTTTGGG TGGTGT----
Rhior3 supercontig_3.2:3199283	TCATCACATC ACATTGGCTG AATCCTTGGG TGGTGT----
Hesve2finisherSC scaffold_39:1	GCAATATATC ACTTTGGCTG AATCTTTGGG TGGTGTGGT
Baccl1 scaffold_223:14901-1621	GGAATACATC ACATTAGCTG AGTCCTTGGG TGGTGT----
ABSGL_04778.1 scaffold_5911	GCAATACATC ACCTTGCCG AATCTTTGGG CGGTGT----
Consensus	BSANYAYATY ACNYTDGCGY ARTCYTKGG YGGTGTGGT
	.... ....  .... ....  .... ....  .... ....
	490 500 510 520
Mucci2 scaffold_08:2134449-213	-----
Phybl2 scaffold_3:2237988-2239	-----
PARPA_13251.1 scaffold_46269	-----
Rhimi_ATCC52814_1 scaffold_99:	-----
Rhior3 supercontig_3.2:3199283	-----
Hesve2finisherSC scaffold_39:1	AAGTGCATCT AAAAAAAAAG GGTTGGTTGG CGACGCTTCA
Baccl1 scaffold_223:14901-1621	-----
ABSGL_04778.1 scaffold_5911	-----
Consensus	AAGTGCATCT AAAAAAAAAG GGTTGGTTGG CGACGCTTCA
	.... ....  .... ....  .... ....  .... ....
	530 540 550 560
Mucci2 scaffold_08:2134449-213	-----TGAG TCTCTGTGCG
Phybl2 scaffold_3:2237988-2239	-----CGAG AGCTTGATCG
PARPA_13251.1 scaffold_46269	-----TGAA TCTCTGTGCG
Rhimi_ATCC52814_1 scaffold_99:	-----CGAA TCTCTGTGCG
Rhior3 supercontig_3.2:3199283	-----TGAA TCTCTGTGCG
Hesve2finisherSC scaffold_39:1	GGAGATTGAC CTTGATCATT TCTATTAGAA TCCTTGATTG
Baccl1 scaffold_223:14901-1621	-----AGAA TCATTAGTGG
ABSGL_04778.1 scaffold_5911	-----GGAA TCCTTGATCG
Consensus	GGAGATTGAC CTTGATCATT TCTATTNGAR WSHYDRTBG
	.... ....  .... ....  .... ....  ....
	570 580 590
Mucci2 scaffold_08:2134449-213	AGGTCCCTGC CATCATGACT CACGGTGCTG TCAG
Phybl2 scaffold_3:2237988-2239	AGGTTCCCTG TGTGATGACC CACGGTTCGG TCAG
PARPA_13251.1 scaffold_46269	AGGTCCCCGC TATCATGACT CATGGTGCTG TCAG

Rhimi_ATCC52814_1 scaffold_99:	AAGTCCCTGC	TATCATGACC	CACGGTCTGT	TTAG	
Rhior3 supercontig_3.2:3199283	AAGTACCTGC	CATCATGACA	CACGGCTCCG	TTAG	
Hesve2finisherSC scaffold_39:1	AAGCCCCTGC	CGTGATGACC	CACGCCTCTG	TGTC	
Baccil scaffold_223:14901-1621	AGGTTCCCTGC	CATCATGACC	CATGGAGCTG	TCTC	
ABSG1_04778.1_scaffold_5911	AATTGCCCTG	CATCATGACC	CACGGTGCCG	TCTC	
Consensus	ARKYNCCYKS	YRTSATGACH	CAYGSHKCBG	TBWS	
	..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... .....				
	10	20	30	40	50
WT_MecB	TCCCCTTATT	TCCAAAACCC	TATTGCCCTT	GGTGCTGACG	TTGTTGTTCA
UV127_MecB	TCCCCTTATT	TCCAAAACCC	TATTGCCCTT	GGTGCTGACG	TTGTTGTTCA
	..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... .....				
	60	70	80	90	100
WT_MecB	CTCCGTGACT	AAATACATCA	ACGGCCACTC	TGATGTTGTG	ATGGGTGTTG
UV127_MecB	CTCCGTGACT	AAATACATCA	ACGGCCACTC	TGATGTTGTG	ATGGGTGTTG
	..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... .....				
	110	120	130	140	150
WT_MecB	CTGTTACCTC	CAACGAAGAA	GTTTACAAGA	AACTTCAATT	CATGCAAAAC
UV127_MecB	CTGTTACCTC	CAACGAAGAA	GTTTACAAGA	AACTTCAATT	CATGCAAAAC
	..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... .....				
	160	170	180	190	200
WT_MecB	TCCCTTGGTG	CTGTCCCTTC	TGCTTTTCGAT	TGTTTCATGG	CTCGTCGTGG
UV127_MecB	TCCCTTGGTG	CTGTCCCTTC	TGCTTTTCGAT	TGTTTCATGG	CTCGTCGTGG
	..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... .....				
	210	220	230	240	250
WT_MecB	TCTCATGACT	CTTGAAGTTC	GTATGCAAAG	ACATGCTGAA	AATGCTCAAG
UV127_MecB	TCTCATGACT	CTTGAAGTTC	GTATGCAAAG	ACATGCTGAA	AATGCTCAAG
	..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... .....				
	260	270	280	290	300
WT_MecB	CTGTTGCCGA	ATATTTGGAA	ACTAACGAAC	ACATTGAAGA	AGTCATCTAT
UV127_MecB	CTGTTGCCGA	ATATTTGGAA	ACTAACGAAC	ACATTGAAGA	AGTCATCTAT
	..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... .....				
	310	320	330	340	350
WT_MecB	CCTGGTCTCA	AGTCTCATCC	CAACCATGAG	TTGGCCAAGC	AACAACAAAA
UV127_MecB	CCTGGTCTCA	AGTCTCATCC	CAACCATGAG	TTGGCCAAGC	AACAACAAAA
	..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... .....				
	360	370	380	390	400
WT_MecB	GGGCTTTGGT	GGTATGATTT	CTTTCCGTGT	TAAGGGTAAT	TTGGATAACG
UV127_MecB	GGGCTTTGGT	GGTATGATTT	CTTTCCGTGT	TAAGGGTAAT	TTGGATAACG
	..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... .....				
	410	420	430	440	450
WT_MecB	TCAACAAGTT	GTTGAGCAAC	TTGGAACACA	TCACTCTTGC	TGAATCTTTG
UV127_MecB	TCAACAAGTT	GTTGAGCAAC	TTGGAACACA	TCACTCTTGC	TGAATCTTTG
	..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... ..... .....				
	460	470	480		

<b>WT_MecB</b>	GGTGGTGGTTG AATCTCTTGT TGAAGTTCCC GCCATC
<b>UV127_MecB</b>	GGTGGTGGTTG AATCTCTTGT TGAAGTTCCC GCCATC

Abb. 7: Verwendete Sequenzen des Cystathionin Gamma-Lyase (*MecB*) Genes auf Blast Basis von *Aspergillus nidulans* (AN1446.2) zur Erstellung der Primer (grau markiert) und Ergebnis der Sequenzierung der korrespondierenden Amplifikate von *Zygorhynchus moelleri* Wildtyp (WT) und UV127.

### Alignment: SAM-Synthetase (MecC)

	..... .....  ..... .....  ..... .....  ..... .....
	10 20 30 40
gb KE123905.1 :239558-240974 M	AAGACTGGTA TGATCATGGT CTTTGGTGAA ATCACCACCA
ABSL 07090.1_scaffold_8717	AAGACCGGTA TGATCATGGT GTTCGGTGAA ATCACCACCA
Bacil scaffold_119:59074-6066	AAGACTGGTA TGATTATGGT CTTTGGTGAA ATCACCACCA
Hesve2finisherSC scaffold_11:5	AAGACTGGTA TGATCATGGT CTTTGGTGAA ATCACCACCA
PARPA 09446.1_scaffold_36645	AAGACTGGTA TGATCATGGT CTTTGGTGAA ATCACCACCA
Phyl2 scaffold_1:2172729-2170	AAGACCGGTA TGATCATGGT TTTCGGTGAG ATCACCACCA
Rhimil_1 scaffold_4:507127-505	AAGACTGGTA TGATCATGGT TTTTGGTGAA ATCACCACCA
Rhior3 supercontig_3.2:3847080	AAGACTGGTA TGATCATGGT CTTTGGTGAA ATCACTACCA
Umbral scaffold_2:445933-44787	AAGACTGGTA TGATCATGGT GTTCGGTGAA ATCACCACCA
Consensus	AAGACYGGTA TGATYATGGT BTTYGGTGAR ATCACYACCA
	..... .....  ..... .....  ..... .....  ..... .....
	50 60 70 80
gb KE123905.1 :239558-240974 M	AGGCTAACCT CGATTACCAA AAGATCATCC GTAACGCCAT
ABSL 07090.1_scaffold_8717	AGGCCAACTT GGACTACCAA AAGATTATCC GTAACGCCAT
Bacil scaffold_119:59074-6066	AGGCCGAGCT CGACTATCAA AAGATCATCC GTAACGCCAT
Hesve2finisherSC scaffold_11:5	AGGCTGTGTT GGACTACCAA AAGATCATCC GTAACGCCAT
PARPA 09446.1_scaffold_36645	AGGCTAATCT CGACTATCAA AAGATCATTC GTAATGCCGT
Phyl2 scaffold_1:2172729-2170	AGGCCAACCT CGACTACCAG AAGATCATCC GTAACGCCAT
Rhimil_1 scaffold_4:507127-505	AGGCCAACCT TGACTACCAA AAGATCATTC GTAACACCAT
Rhior3 supercontig_3.2:3847080	AGGCTAACCT TGACTATCAA AAGATCATCC GTAACACCAT
Umbral scaffold_2:445933-44787	AGGCTCAACT TGACTACCAA AAGATCATCC GTAACACCAT
Consensus	AGGCYVWNYT BGAYTAYCAR AAGATYATYC GTAAAYRCRT
	..... .....  ..... .....  ..... .....  ..... .....
	90 100 110 120
gb KE123905.1 :239558-240974 M	CAAGCAAATT GGTATGATG ATTCCGAAAA GGGTTTCGAC
ABSL 07090.1_scaffold_8717	CAAGCAAATT GGTATGACT CTTCGGACAA GGGTTTCGAT
Bacil scaffold_119:59074-6066	CAAGCAGATT GGTACGATG ATTCCGAAAA GGGATTTCGAC
Hesve2finisherSC scaffold_11:5	CAAGCAAATC GGTATGACT CTTCGAAAA GGGTTTCGAC
PARPA 09446.1_scaffold_36645	CAAGCAAATT GGTATGACG ATTCGAAAA GGGTTTCGAT
Phyl2 scaffold_1:2172729-2170	CAAGCAGATT GGTACGATG ACTCTGCCAA GGGTTTCGAT
Rhimil_1 scaffold_4:507127-505	CAAGCAAATT GGTATGATG ATTCCGATAA GGGTTTCGAC
Rhior3 supercontig_3.2:3847080	CAAGCAAATT GGTATGATG ATTCCGAAAA GGGTTTCGAT
Umbral scaffold_2:445933-44787	CAAGCAGATT GGTATGATG ACTCCTCCAA GGGTTTCGAT
Consensus	CAAGCARATY GGTAYGAYK MYTCYKMHAA GGGHTTCGAY
	..... .....  ..... .....  ..... .....  ..... .....
	130 140 150 160
gb KE123905.1 :239558-240974 M	TACAAGACCT GTAACGTCTT GGTGGCCATT GAACAACAAT
ABSL 07090.1_scaffold_8717	TACAAGACCT GTAACGTATT GGTGCTATC GAACAACAAT
Bacil scaffold_119:59074-6066	TACAAGACCT GTAACGTCCT TGTGCTATC GAACAGCAAT
Hesve2finisherSC scaffold_11:5	TACAAGACCT GTAACGTGTT GGTGGCCATT GAACAACAAT
PARPA 09446.1_scaffold_36645	TACAAGACCT GTAATGTTTT GGTGGCCATT GAGCAACAAT
Phyl2 scaffold_1:2172729-2170	TACAAGACCT GCAATGTCTT GGTGGCCATT GAGCAGCAGT
Rhimil_1 scaffold_4:507127-505	TACAAGACCT GTAACGTCTT GGTGCTATC GAACAACAAT
Rhior3 supercontig_3.2:3847080	TACAAGACCT GTAACGTCTT GGTGCTATT GAACAACAAT
Umbral scaffold_2:445933-44787	TACAAGACCT GTAACGTTCT TGTCGCCATT GAGCAACAGT
Consensus	TACAAGACCT GYAAVGTNYT KGTGTCYATY GARCARCART

gb KE123905.1 :239558-240974 M ABSL 07090.1_scaffold_8717 Baccl scaffold 119:59074-6066 Hesve2finisherSC scaffold 11:5 PARPA 09446.1_scaffold_36645 Phybl2 scaffold 1:2172729-2170 Rhimil_1 scaffold 4:507127-505 Rhior3 supercontig_3.2:3847080 Umbral scaffold_2:445933-44787 Consensus	.... ....  .... ....  .... ....  .... ....  170 180 190 200	CCCCTGATAT TTCTCAAGGT TTGGTTCAAA AGTCTTTCAA CTCCTGATAT CTCTCAAGGT TTGGTACAAA AGTCCTTCAA CTCCCGATAT TTCTCAAGGT CTTGTCCAAA AGTCCTTCAA CTCCTGATAT CTCCCAAGGT TTGGTGCAAA AGTCCTTCAA CTCCTGATAT CTCCCAAGGT CTAGTCAAAA AGTCTTTCAA CTCCCGATAT TTCCCAAGGT TTGGTCCAAA AGTCATTCAA CACCTGATAT CGCCCAAGGT CTCGTTCAAA AGTCCTTCAA CTCCTGATAT TGCTCAAGGT CTTGTTCAAA AGTCTTTCAA CCCCTGATAT CGCTCAAGGT CTTGTCCAAA AGTCCTTCAA CHCCYGATAT YKCYCARGGT YTNGTNCAAA AGTCHTTCAA
	.... ....  .... ....  .... ....  .... ....  210 220 230 240	CATTGAAGAC ATTGGTGCCG GTGACCAAGG TATCATGTTT CATTGAAGAC ATTGGTGCTG GTGATCAAGG TATTGTGTTT CATCGAGGAT ATTGGTGCCG GTGATCAAGG TATCATGTTT CATCGAAGAC ATCGGTGCTG GTGACCAAGG TATCATGTTT CATTGAAGAT ATTGGTGCTG GTGATCAAGG TATCATGTTT CATTGAGGAT ATTGGTGCTG GTGACCAGGG TATCATGTTC CATTGAAGAT ATTGGTGCTG GTGATCAAGG CATTATGTTT CATTGAAGAT ATTGGTGCTG GTGACCAAGG TATCATGTTT CGTTGAGGAT ATTGGTGCTG GTGACCAGGG TATCATGTTT CRTYGARGAY ATYGGTGCTG GTGAYCARGG YATYRTGTTY
	.... ....  .... ....  .... ....  .... ....  250 260 270 280	GGGTATGTAT CTATGCAATG CTTCCGTTCT GATATTTCTT GG----- GG----- GG----- GG----- GG----- GGGTATGTG TACAACATTA TTTTTCGCAC GATAAGCGCA GGGTAAAGTA CATTGAGATA TAAAT-ATAG AAACCATGCA GG----- GGGTAWDKWD YWHWDSRWTR YWWHYSDYMB RAWMHDYSYW
	.... ....  .... ....  .... ....  .... ....  290 300 310 320	ACTAACAATG TTTGTATACT AGTTATGCCA CTGATGAAAC ----- --TTACGCCA CTGATGAAAC ----- --TTATGCTA CTGATGAGAC ----- --TTATGCTA CCGATGAAAC ----- --TTATGCTA CTGATGAAAC ----- --TTATGCCT CTGATGAAAC AATACGCTAA CACCT-TATT AGTTATGCCA CAGATGAAAC ATTAAT---A CATAT-ACTT AGTTATGCCA CTGATGAAAC ----- --TTATGCCA CTGATGAGAC AHTAMBWWR YWYVTAWMYT AGTTAYGCYW CHGATGARAC
	.... ....  .... ....  .... ....  .... ....  330 340 350 360	TCCCGAGATG ATGCCTTTGA CCGCTGTCCT CTCCCACAAG CCCTGAAATG ATGCCTTTGA CTGTTGTCTT CTCCCACAAG TCCCGAGATG ATGCCCTTGA CCGCTGTTCT CTCTCACAAG TCCCGAAATG ATGCCCTTGA CCGTTGTGTT GTCCCACAAG TCCCGAGATG ATGCCCTTGA CTGCTGTTT GTCTCACAAG CCCTGAGATG ATGCCCTTCA CCATCGTCTT GGCCCACAAG ACCCGAAATG ATGCCCTTGT CCTGTGTTCT CTACACAAG TCCTGAAATG ATGCCCTTGA CCTGTGTTCT CTCTCACAAG TCCTGAGTTC ATGCCCTTCA CTGTCATGTT TGCCCACAAG HCCYGARWTS ATGCCYYTSW CYDBYRTBYT BKCHCACAAG

gb KE123905.1 :239558-240974 M ABSL 07090.1_scaffold_8717 Baccl1 scaffold_119:59074-6066 Hesve2finisherSC scaffold_11:5 PARPA_09446.1_scaffold_36645 Phybl2 scaffold_1:2172729-2170 Rhimil_1 scaffold_4:507127-505 Rhior3 supercontig_3.2:3847080 Umbra1 scaffold_2:445933-44787 Consensus	.... ....  .... ....  .... ....  .... ....
	370 380 390 400
	CTCAACAAGC GCATGGCCGA TCTCCGTCGT GATGGTACTC
	TTGAACCGTC GTATGGCTGA TCTTCGTCGT GATGGTACTC
	CTCAACAAGC GTATGGCTGA TTGCCGTCGT GATGGTACCC
	CTTAACCGCC GCATGGCTGA CCTCCGTCGT GACGGTACCC
	CTCAACAAGA AAATGGCTGA TCTTCGTCGT GATGGCACAC
	CTCAACCGCC GTATGGCCGA CCTCCGTCGT GACGGTACCT
	TTGAACAAGC GTATGGCTGA CCTCCGTCGT GACGGTACCC
	CTCAACAGCC GCATGTCTGA ACTTCGTCGT GATGGTACCC
gb KE123905.1 :239558-240974 M ABSL 07090.1_scaffold_8717 Baccl1 scaffold_119:59074-6066 Hesve2finisherSC scaffold_11:5 PARPA_09446.1_scaffold_36645 Phybl2 scaffold_1:2172729-2170 Rhimil_1 scaffold_4:507127-505 Rhior3 supercontig_3.2:3847080 Umbra1 scaffold_2:445933-44787 Consensus	.... ....  .... ....  .... ....  .... ....
	410 420 430 440
	TCTCTTGGTT GCGTCCTGAT TCCAAGACCC AAGTTACCAT
	TTGCTTGGTT GCGTCCTGAT TCCAAGACTC AGGTGACTAT
	TCTCTTGGTT GCGTCCTGAT TCAAAGACCC AGGTCACCAT
	TTGGCTGGTT GCGCCCCGAC TCCAAGACCC AAGTCACCAT
	TCTCTTGGTT GCGTCCTGAC TCCAAGACCC AAGTTACCAT
	TGGCTTGGTT GCGTCCTGAC TCCAAGACCC AGGTCACCAT
	TCGCTTGGTT GCGTCCTGAC TCCAAGACTC AGGTACTAT
	TTGGTTGGTT GCGTCCTGAT TCCAAGACCC AAGTTACCAT
gb KE123905.1 :239558-240974 M ABSL 07090.1_scaffold_8717 Baccl1 scaffold_119:59074-6066 Hesve2finisherSC scaffold_11:5 PARPA_09446.1_scaffold_36645 Phybl2 scaffold_1:2172729-2170 Rhimil_1 scaffold_4:507127-505 Rhior3 supercontig_3.2:3847080 Umbra1 scaffold_2:445933-44787 Consensus	.... ....  .... ....  .... ....  .... ....
	450 460 470 480
	TGAATACAAG AACGAGAACG GTGCCATGGT CCCTCTCCGT
	TGAATACAAG AAGGAAAACG GTGCTATGGT CCCTCTCCGT
	TGAATACAAG AATGACGGTG GTGCTATGGT TCCTCTTCGT
	CGAATACAAG AACGATAACG GTGCCATGAT TCCTCTCCGT
	TGAATACAAG AATGATAATG GTGCAATGGT CCCTCTCCGT
	CGAGTACAAG AACGAGAACG GTGCCATGAT TCCCTCCGT
	TGAATACAAG AACGACAATG GTGCCATGGT TCCTCTTCGT
	TGAATACAAG AATGAAAATG GTGCCATGGT TCCTCTTCGT
gb KE123905.1 :239558-240974 M ABSL 07090.1_scaffold_8717 Baccl1 scaffold_119:59074-6066 Hesve2finisherSC scaffold_11:5 PARPA_09446.1_scaffold_36645 Phybl2 scaffold_1:2172729-2170 Rhimil_1 scaffold_4:507127-505 Rhior3 supercontig_3.2:3847080 Umbra1 scaffold_2:445933-44787 Consensus	.... ....  .... ....  .... ....  .... ....
	490 500 510 520
	GTCGATACCG TCGTCGTCTC TGTTCACAT GCTGTGAGA
	GTGGACACTA TTGTCATCTC CGTCCAACAT GCTGAAGATA
	GTTGATACTG TTGTCATCTC TGTTCAGCAT GCTGCTGAAA
	GTCGATACCA TTGTCATCTC CGTCCAACAC GCCGAAGAAA
	GTCGATACCG TTGTTATATC TGTTCACAC GCTGCCGATA
	GTCGACACCG TCGTTATCTC TGTCCAGCAC GCTGCCGAGA
	GTTGATACCG TTGTCATTTT TGTTCACAT GCCGCCGAAG
	GTAGACACTG TTGTCATCTC TGTTCACAC GCTGTGAAA
gb KE123905.1 :239558-240974 M ABSL 07090.1_scaffold_8717 Baccl1 scaffold_119:59074-6066 Hesve2finisherSC scaffold_11:5 PARPA_09446.1_scaffold_36645 Phybl2 scaffold_1:2172729-2170 Rhimil_1 scaffold_4:507127-505 Rhior3 supercontig_3.2:3847080 Umbra1 scaffold_2:445933-44787 Consensus	.... ....  .... ....  .... ....  .... ....
	530 540 550 560
	TTGAGACTGA AGATCTCCGT AAGGCCTTGA TGGAACACAT
	TCTCTACTGA AGACTTGCGC AAGGCTTTGA TGGAACATGT
	TCGAGACTGA AGATCTCCGT AAGGCCTTGA TGGAACACAT
	TCTCCACCGA AGACTTGCGT AAGGCTTTGA TGGAACACGT
	TCGAAACTGA AGATCTCCGT AAAGCCTTGA TGGAACATGT
	TCGAGACCGA CTACTTGCGC AAGGCCCTTA TGGAGCACGT
	TTGAAACTGA AGACCTTCGT AAGGCCTTGA TGGAACACGT
	TTGAAACTGA AGACCTTCGT AAGGCCTTGA TGGAACATGT
	TCTCCACTGA GGACCTTCGC AAGGCCATCA AGGATCACGT
	TYKMNACYGA VKAYYBCGY AARGCYHTBA WGGADCAYRT



```

      ....|...
gb|KE123905.1|:239558-240974 M   CATTAAGC
ABSG1_07090.1_scaffold_8717     TGTC AAGC
Baccl1 scaffold_119:59074-6066   CATCAAGC
Hesve2finisherSC scaffold_11:5   CATCAAGC
PARPA_09446.1_scaffold_36645     CATTAAGG
Phybl2 scaffold_1:2172729-2170   CGTCAAGC
Rhimi1_1 scaffold_4:507127-505   CGTCAAGC
Rhior3 supercontig_3.2:3847080   CATCAAGC
Umbral scaffold_2:445933-44787   TATTGACT
Consensus                        YRTYRASE

      ....|....| ....|....| ....|....| ....|....| ....|....|
      10          20          30          40          50
WT_MecC      TTTTCGGTGA AATCACCACC AAGGCTAACC TTGATTATCA AAAGATCATC
UV127_MecC    TTTTCGGTGA AATCACCACC AAGGCTAACC TTGATTATCA AAAGATCATC

      ....|....| ....|....| ....|....| ....|....| ....|....|
      60          70          80          90         100
WT_MecC      CGTAACGCCA TCAAGCAAAT CGGTTATGAT GATTCTGAAA AGGGCTTCGA
UV127_MecC    CGTAACGCCA TCAAGCAAAT CGGTTATGAT GATTCTGAAA AGGGCTTCGA

      ....|....| ....|....| ....|....| ....|....| ....|....|
      110         120         130         140         150
WT_MecC      TTACAAGACC TGTAACGTCT TGGTCGCTAT TGAACAACAA TCTCCTGATA
UV127_MecC    TTACAAGACC TGTAACGTCT TGGTCGCTAT TGAACAACAA TCTCCTGATA

      ....|....| ....|....| ....|....| ....|....| ....|....|
      160         170         180         190         200
WT_MecC      TTTCTCAAGG TCTTGTCCAA AAGTCATTCA ATATCGAGGA TATCGGTGCC
UV127_MecC    TTTCTCAAGG TCTTGTCCAA AAGTCATTCA ATATCGAGGA TATCGGTGCC

      ....|....| ....|....| ....|....| ....|....| ....|....|
      210         220         230         240         250
WT_MecC      GGTGACCAAG GGTAAGTGCA CAACTTTTCC AATCACGGTA ATCTCAGTTA
UV127_MecC    GGTGACCAAG GGTAAGTGCA CAACTTTTCC AATCACGGTA ATCTCAGTTA

      ....|....| ....|....| ....|....| ....|....| ....|....|
      260         270         280         290         300
WT_MecC      TTAATCCCAA TTTACTCTTC ATTCCTTCAC CTCAACTATT CAATCCCTCT
UV127_MecC    TTAATCCCAA TTTACTCTTC ATTCCTTCAC CTCAACTATT CAATCCCTCT

      ....|....| ....|....| ....|....| ....|....| ....|....|
      310         320         330         340         350
WT_MecC      CAATAAGCAT AATGTTTGGG TTAGTATTTA TTTATAAAAC ATGATTATAG
UV127_MecC    CAATAAGCAT AATGTTTGGG TTAGTATTTA TTTATAAAAC ATGATTATAG

      ....|....| ....|....| ....|....| ....|....| ....|....|
      360         370         380         390         400
WT_MecC      ATAACACACT TCACGTGTAC ATATATTAAC GTTCTTCATC AATTTTAGTT
UV127_MecC    ATAACACACT TCACGTGTAC ATATATTAAC GTTCTTCATC AATTTTAGTT

      ....|....| ....|....| ....|....| ....|....| ....|....|
      410         420         430         440         450
WT_MecC      ACGCTACTGA TGAAACCCCC GAGATGATGC CCTTGACTGC TGTCCTCTCT
UV127_MecC    ACGCTACTGA TGAAACCCCC GAGATGATGC CCTTGACTGC TGTCCTCTCT

```

	.... ....  .... ....  .... ....  .... ....  .... ....
	460 470 480 490 500
<b>WT_MecC</b>	CACAAGCTCA ACAAGCGTAT GGCTGATCTC CGTCGTGACG GTACCCCTCTC
<b>UV127_MecC</b>	CACAAGCTCA ACAAGCGTAT GGCTGATCTC CGTCGTGACG GTACCCCTCTC
	.... ....  .... ....  .... ....  .... ....  .... ....
	510 520 530 540 550
<b>WT_MecC</b>	TTGGTTGCGT CCTGATTCCA AGACCCAAGT CACCATTGAA TACAAGAACG
<b>UV127_MecC</b>	TTGGTTGCGT CCTGATTCCA AGACCCAAGT CACCATTGAA TACAAGAACG
	.... ....  .... ....  .... ....  .... ....  .... ....
	560 570 580 590 600
<b>WT_MecC</b>	ATAACGGTGC CATGATCCCT CTTCGTGTCG ATACCGTCGT TGTCTCTGTT
<b>UV127_MecC</b>	ATAACGGTGC CATGATCCCT CTTCGTGTCG ATACCGTCGT TGTCTCTGTT
	.... ....  .... ....  .... ....  .... ....  .... .
	610 620 630 640
<b>WT_MecC</b>	CAACACGCTG CTGAAATTGA AACTGAAGAT CTCCGTAAGG CTTTGA
<b>UV127_MecC</b>	CAACACGCTG CTGAAATTGA AACTGAAGAT CTCCGTAAGG CTTTGA

Abb. 8: Verwendete Sequenzen des SAM-Synthetase (*MecC*) Genes auf Blast Basis von *Aspergillus nidulans* (AN1222.2) zur Erstellung der Primer (grau markiert) und Ergebnis der Sequenzierung der korrespondierenden Amplifikate von *Zygorhynchus moelleri* Wildtyp (WT) und UV127.

## 11 Wissenschaftliche Veröffentlichungen

### Publikationen mit korrespondierender Autorenschaft:

Schulz, E., Siegmund, L., Voigt, J. und Wöstemeyer, J. 2016. Hyphal interactions: A simple technique for covalent modification of sexually committed aerial mycelia of the zygomycete *Zygorhynchus moelleri*. *Endocyt. Cell Res.* 27, 3 – 8.

Schulz, E. und Wetzel J. 2016. Morphological characterization of sex-deficient mutants of the homothallic zygomycete *Zygorhynchus moelleri*. *Mycoscience* 57, 1 – 15.

Schulz, E., Wetzel, J., Burmester, A., Ellenberger, S., Siegmund, L. und Wöstemeyer J. 2016. Sex loci of homothallic and heterothallic Mucorales. *Endocyt. Cell Res.* 27, 39 – 57.

### Publikationen mit Beteiligung:

Wöstemeyer, J., Schimek, C., Wetzel, J., Burmester, A., Voigt, J., Schulz, E., Ellenberger, S. und Siegmund, L. 2016. Pheromone action in the fungal groups Chytridiomycetes and Zygomycetes and in the Oophytes. In: Wendland, J. (Hrsg.). *The Mycota I. Growth, Differentiation and Sexuality*, 3rd Edition. Springer International Publishing Switzerland, 203 – 234.

Wöstemeyer, J., Ellenberger, S., Schulz, E., Siegmund, L., van Burgeler, A., Gerlitz, N., Burmester, A., Wetzel, J. und Voigt, J. 2016. Fusion parasitism between *Parasitella parasitica* and its host *Absidia glauca*: A system between sexuality and parasitism. *Endocyt. Cell Res.* 27, 24 – 32.

### Poster:

VAAM-Tagung in Jena (13.03.2016-16.03.2016)

Schulz, E. und Wetzel, J. UV-mutants of the homothallic zygomycete *Zygorhynchus moelleri* affected in sexual morphogenesis. Beitragsnummer: FBP11

## 12 Curriculum vitae

### Persönliche Daten

Name: Emilia Schulz  
Geb.datum: 31.01.1990  
Adresse: Theobald-Renner-Str. 2, 07747 Jena  
Mobil: 0176-81301379  
E-Mail: emilia.schulz@uni-jena.de

### Schulbildung

2000 – 2008	Goethe- Gymnasium Reichenbach Abitur mit Durchschnittsnote 2,3 Leistungskurse: Deutsch, Biologie
02/1999 – 05/1999	St Mary's Catholic Primary School Loughborough, England 3 <sup>th</sup> grade primary school
1996 – 2000	Grundschule Weinholdschule Reichenbach

### Studium

2011 – 2013	Friedrich-Schiller-Universität Jena Erlangung des Hochschulgrades Master of Science mit Durchschnittsnote 1,5
2008 – 2011	Friedrich-Schiller-Universität Jena Erlangung des Hochschulgrades Bachelor of Science mit Durchschnittsnote 2,2

**Promotion**

2013 – dato	Dissertation an der Friedrich-Schiller-Universität Jena, Institut für Mikrobiologie, LS für Allgemeine Mikrobiologie und Mikrobengenetik
-------------	--

**Berufserfahrung**

2011 – 2013	Hiwi - Job am Institut für Mikrobiologie der FSU Jena
-------------	---

## 13 Danksagung

Mein besonderer Dank gebührt meinem Doktorvater Johannes Wöstemeyer dafür, dass er es mir ermöglicht hat an diesem Institut weiterzuarbeiten und mich durch kritisches Hinterfragen dazu gebracht hat, mich und meine Denkweise weiterzuentwickeln. Du hast mich nicht nur dazu gebracht über meine Grenzen hinaus zu philosophieren, sondern auch dem Namen Doktorvater alle Ehre gemacht.

Ich danke Anke Burmester für die stets kompetenten Ratschläge, ihre kritischen Bemerkungen und Hilfe bei den Sequenzierungen.

Ich danke Jana Wetzel für Ihre Hilfe bei der Initiation des Projektes und die zahlreichen Ratschläge.

Jürgen Voigt möchte ich dafür danken, dass er seine Erfahrungen mit Chlamydomonas auf unsere Pilze übertragen und so zu vielen interessanten Diskussionen und Input bei weiteren Untersuchungen beigetragen hat.

Danke auch an meine beiden Mitstreiterinnen, Lisa Siegmund und Sabrina Ellenberger, den Mitgliedern des Invalidenquartetts, für die wissenschaftlichen und kulturellen Diskussionen. Speziell an Sabrina nochmal ein riesiges Dankeschön für die bioinformatische Erleuchtung, die sie mir im letzten Jahr beschafft hat. Es war schön diese doch schwere Zeit mit euch gemeinsam durchstehen zu dürfen. Getreu dem Motto: Geteiltes Leid ist halbes Leid und durch Drei geteilt, ist es noch viel weniger.

Ein weiteres Dankeschön gilt allen Kolleginnen und Kollegen, die mich während meiner Zeit am Lehrstuhl begleitet haben und im Laufe der Zeit für sehr viele schöne Erlebnisse und Gespräche sorgten. Danke an Alexander van Burgeler, Nadja Gerlitz und Hendrike Dürichen.

Ein großer Dank gilt meiner Sportgruppe, allen voran Georg Hildebrandt, Linda Männel, Oliver Mothes, Tobias Hopper, Stefan Illhardt, Yvonne Voigt, Christiane Kiel, und Steve Saß. Ich danke Euch, dass ihr nicht nur einmal meine Tränen getrocknet habt und mich immer wieder aufs Neue mit unfachlichen Diskussionen und Kaffeepausen motiviert habt. Zusätzlich möchte ich mich bei Georg für die Unterstützung und Geduld bei der Formatierung der Arbeit bedanken.

Danke an meine Mutter, Martina Schulz, meine drei Geschwister, Henrike, Albert und Jakob, und meinen Schwager, Christopher Pirsch. Ohne Euch wäre ich nicht dort, wo ich jetzt bin und hätte wahrscheinlich schon mehrfach die Flinte ins Korn geworfen. Danke für Eure Unterstützung und Eure Geduld.

## 14 Eigenwörtliche Erklärung

Ich erkläre hiermit,

dass mir die geltende Promotionsordnung der Biologisch-Pharmazeutischen-Fakultät bekannt ist;

dass die hier vorliegende Dissertation selbstständig von mir angefertigt wurde und dabei nur die von mir aufgelisteten Hilfsmittel, persönlichem Mitteilungen und Quellen verwendet wurden;

dass in dieser Arbeit keine Textabschnitte von Dritten ohne deren Kennzeichnung übernommen worden sind;

dass mich folgende Personen bei der Auswertung und Auswahl des Materials unterstützt haben:

Prof. Dr. Johannes Wöstemeyer

Dr. Jana Wetzel

PD Dr. Anke Burmester

Dr. Jürgen Voigt

dass die Hilfe eines kommerziellen Promotionsberaters nicht in Anspruch genommen wurde und Dritte weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen für Arbeiten, welche im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorliegenden Dissertation stehen, erhalten haben;

dass ich die Dissertation noch nicht als Prüfungsarbeit für eine staatliche oder andere wissenschaftliche Prüfung eingereicht habe;

dass weder die gleiche, noch in wesentlichen Teilen identische Arbeit oder eine andere Abhandlung bei einer anderen Hochschule als Dissertation eingereicht habe.

---

Datum, Unterschrift